FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1963 N° 201

INTÉRÊT ET VALEUR DU DOSAGE DES BILIRUBINES LIBRE ET CONJUGUÉE DANS LE SÉRUM.

THÈSE

présentée

à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de LYON

et soutenue publiquement le 22 novembre 1963

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

ARNAUD Janik

née le 28 juillet 1938

à PHILIPPEVILLE (Algérie)

EDITIONS DE L'A.G.E.L.

20, rue François-Garcin - LYON (3e)

1963

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550014_0033

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1963 N°201

INTÉRÊT ET VALEUR DU DOSAGE DES BILIRUBINES LIBRE ET CONJUGUÉE DANS LE SÉRUM.

THÈSE

présentée

à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de LYON

et soutenue publiquement le 22 novembre 1963

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

ARNAUD Janik

née le 28 juillet 1938

à PHILIPPEVILLE (Algérie)

EDITIONS DE L'A.G.E.L.

20, rue François-Garcin - LYON (3e)

1963

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

P E R S O N N E L D E L A F A C U L T E

Doyens honoraires :

M.J. LEPINE : Membre de l'Institut.
M. H. HERMANN : Correspondant de l'Institut.

Doyen : M.J.F.CIER

Assesseurs : MM. M. LEVRAT
L. REVOL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET.

PROFESSEURS

MM.CIBERT	Clinique urologique.
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique biologique.
DECHAUME	Clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale.
CHAMBON	Chimie organique et toxicologique.
WERTHEIMER	Clinique chirurgicale B.
PAUPERT-RAVAULT	Clinique médicale B.
FROMENT	Clinique et prophylaxie cardio-vasculaire.
CROIZAT	Clinique médicale C.
ENSELME	Chimie biologique et médicale.
MALLET-GUY	Clinique chirurgicale A.
REVOL	Pharmacie galénique.
POLLOSSON	Clinique gynécologique.
PIGEAUD	Clinique obstétricale.
BOURRET	Médecine du travail.
LEVRAT	Clinique médicale A.
SOHIER	Hygiène et action sanitaire et sociale.
NETIEN	Botanique et cryptogamie.
BERTRAND	Clinique chirurgicale C.
BADINAND	Chimie analytique pharmaceutique.
DREVON	Pharmacie chimique et pharmacologie.
ROCHE	Médecine légale et déontologie.
COUDERT	Parasitologie et pathologie exotique.
MOUNIER-KUHN	Clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie et d'audio-phonologie.
PAUFIQUE	Clinique ophtalmologique.
THIERS	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie.
BRUN	Clinique de pneumo-phtisiologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES TITULAIRES

MM. CREYSSEL Roger	Chimie biologique.
THIVOLET	Hygiène.
GARIN	Parasitologie.
PINET	Electro-radiologie.
ODDOUX	Botanique et cryptogamie.
de SOLLIERS	Chimie analytique.
TOLOT	Médecine du travail.
DESPIERRES	Médecine générale.
GUYOTAT	Neuro-psychiatrie.
DESCOTES	Chirurgie générale.
JOUVET	Pathologie expérimentale.
PEYRIN	Physique biologique.
TOMMASI	Anatomie pathologique.
BUFFARD	Electro-radiologie.
LEJEUNE	Médecine générale et thérapeutique.
de MOURGUES F.	Stomatologie.
NAUSSAC	Maladies infectieuses.
REBOUILLAT	Chirurgie générale.
ROMAGNY	Pédiatrie.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES STAGIAIRES

MM. DUROUX	Anatomie.
BRETTE	Thérapeutique.
BOUCHET	Anatomie.
FAVRE-GILLY	Hématologie.
GIROD	Histologie et embryologie.
GRAS	Chimie biologique.
MALLEIN	Chimie analytique.
RIFFAT	Hygiène.
FAUCON	Biologie médicale et pharmacodynamie.
FLANDROIS	Physiologie.
VIALLIER-RAYNARD	Bactériologie.

AGREGES EN EXERCICE

MM. BURTHIAULT	Obstétrique.
FRANCOIS	Pédiatrie et puériculture.
GIGNOUX	Oto-rhino-laryngologie.
GUILLEMIN	Chirurgie générale.
JAUBERT DE BEAUJEU	- générale.
MARION Pierre	Chirurgie générale.
MICHAUD	Chirurgie générale.
PLAUCHU	Médecine générale.
PONT	Médecine générale.
SAUTOT	Chirurgie générale.
TRAEGER	Médecine générale.
VIGNON	Médecine générale.

MM. CREYSSEL	Clinique traumatologique des membres.
DARGENT	Clinique carcinologique.
GUICHARD	Anatomie pathologique.
GIRARD Paul	Pathologie générale et expérimentale.
LATARJET	Anatomie.
PEYCELON	Pathologie chirurgicale.
GIRARD Marcel	Thérapeutique.
VACHON	Pathologie médicale.
GALY	Physio-pathologie des voies respiratoires.
PAPILLON	Radiologie.
JEUNE	Clinique des maladies infectieuses.
GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.
MONNET	Bactériologie.
BANSILLON	Physiologie et pathologie obstétricales.
CHATONNET	Physiologie B.
GUINET	Clinique endocrinologique.
TRILLAT	Clinique de chirurgie orthopédique.
FREIDEL	Clinique stomatologique.
MARION Joseph	Clinique de chirurgie et d'orthopédie infantiles.
DORCHE	Matière médicale et législation pharmaceutique.
DUMONT Louis	Histologie et embryologie.
PERROT	Chilie.
CIER J.F.	Physiologie A.
PERRIN J.	Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.
X.....	Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge.
X.....	Biologie médicale et pharmacodynamie.

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

MM. BERGER	Physique nucléaire appliquée à la médecine.
BERTOYE	Bactériologie.
MANSUY	Neuro-chirurgie.
COLLET	Chimie pharmaceutique.
SARROUY	Clinique de pédiatrie.
LACROIX	Climatologie.
LIARAS	Clinique chirurgicale propédeutique.
LECUIRE	Neuro-chirurgie.
REVOL	Médecine générale.
GOINARD	Thérapeutique chirurgicale.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. ROMAN	Parasotilogie.
CIER André	Pharmacie chimique et pharmacologie.
FEROLDI	Anatomie pathologique.
MORET	Physique biologique.

MM. BONAMOUR	Ophtalmologie.
COLIN	Médecine légale.
COLOMB	Dermatologie.
de MOURGUES Georges	Chirurgie générale.
DEVIC	Médecine générale.
DUMONT Martial	Obstétrique.
DURAND	Urologie.
FRANCILLON	Chirurgie générale.
SAUBIER	Chirurgie générale.
SCHOTT	Neuro-psychiatrie.
ALLEGRE	Neuro-chirurgie.
CHASSARD	Electro-radiologie
FAYSSE	Orthopédie.
GAILLARD	Oto-rhino-laryngologie.
GARDE	Médecine générale.
HUGONNIER	Ophtalmologie.
KALB	Pneumo-phtisiologie.
LARBRE	Médecine générale.
MARET	Chirurgie générale.
MORNEIX	Médecine générale.
NORMAND	Médecine générale.
PERRIN André	Médecine générale.
BETHENOD	Pédiatrie et puériculture.
DUMAS	Stomatologie.
FRIES	Médecine générale.
GARMIER	Obstétrique.
LAMBERT	Médecine générale.
MICHOULIER	Chirurgie générale.
NOEL	Médecine générale.
ROBERT	Médecine générale.
SCHNEPP	Orthopédie.

EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président : M. LEVRAT

MM. BRETTE
TRAEGER
LAMBERT

A MES PARENTS

A MON FRERE RENE

A MON MARI

A MON FILS

A TOUTE MA FAMILLE

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. LEVRAT
Professeur de Clinique Médicale.

Nous avons eu la chance, au cours de plusieurs stages effectués dans son Service, d'apprécier la qualité de son enseignement.

Nous sommes sensibles à sa présence comme Président de notre Jury, et nous le remercions de l'honneur qu'il nous fait.

A NOTRE MAITRE MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE R. BRETTE

Médecin des Hôpitaux

Il nous a toujours témoigné la plus grande bienveillance, et nous a fait le très grand honneur de nous confier ce travail.

Qu'il veuille, avec toute son indulgence, trouver ici l'expression de notre sincère attachement et de notre respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE J. TRAEGER

Médecin des Hôpitaux

Nous le remercions du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger ce travail.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre très vive gratitude et l'assurance de notre profond respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE LAMBERT

Il a très aimablement accepté de faire partie de notre jury. Nous lui adressons nos plus vifs remerciements.

A Monsieur le Docteur B. FRANCOIS

Chef de Clinique Médicale - Assistant à la Faculté.

Nous lui sommes infiniment reconnaissante de l'aide qu'il nous a apportée et des conseils qu'il nous a prodigués inlassablement au cours de l'élaboration de ce travail.

L'étendue de ses connaissances, son égalité d'humeur et sa cordialité font notre admiration.

Nous le remercions bien sincèrement et l'assurons de notre profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur A. JOUVENCEAUX

Chef du Laboratoire des Groupes Sanguins.

Nous avons eu la chance de pouvoir bénéficier des ressources de son laboratoire, et de sa grande compétence.

Nous avons toujours été très sensible à l'amabilité de l'accueil qu'il nous réservait. Qu'il en soit remercié.

T A B L E D E S M A T I E R E S

INTRODUCTION HISTORIQUE.

1 - LE METABOLISME NORMAL DE LA BILIRUBINE.

I - Origine.
II - Etape sanguine.
III - Etape hépatique.
a) Les transformations chimiques.
b) Le système enzymatique de la Glycuroconjugaison.
IV - Elimination.

2 - LE METABOLISME PATHOLOGIQUE DES BILIRUBINES.

I - Ictères à Bilirubine libre.
II - Ictères à Bilirubine mixte.

3 - LE DOSAGE DIFFERENTIEL DES BILIRUBINES AU COURS DE L'EVOLUTION DES ICTERES.

RESULTATS ET DISCUSSION.

I - Ictères Hémolytiques.
II - Ictères par obstacle extra hépatique.
III - Ictères par Hépatite Infectieuse.
IV - Ictères des Cirrhoses.
V - Ictères du post-abortum.
VI - Synthèse.

CONCLUSION.

BIBLIOGRAPHIE.

INTRODUCTION HISTORIQUE

C'est en 1878 que HAMMARSTEN (45) démontre le premier la réalité d'une forme circulante d'un pigment biliaire, dans le sérum de cheval.

En 1903 : GILBERT, HERSHER et POSTERNAK (42) mettent en évidence ce pigment dans le sérum humain.

En 1916, HIJMANS VAN DEN BERG (47) montre à son tour que la bile réagit de façon différente selon le type d'ictère :

I° - Dans les obstructions biliaires, la bile et le sérum donnent avec le réactif d'ERHLICH une réaction diazoïque rouge violacée, caractéristique de la bilirubine, immédiate.

II° - Dans les ictères hémolytiques, la coloration est beaucoup plus lente à apparaître (deux à quatre minutes), elle est plus rapide et plus complète après adjonction d'alcool.

HIJMANS VAN DEN BERG en conclut qu'il existe deux sortes de bilirubine l'une " pré-hépatique ", qui donne une réaction après addition d'alcool, donc indirecte, l'autre " post-hépatique " qui donne une réaction directe.

Des travaux ultérieurs attestent que la bilirubine à réaction directe peut passer le filtre rénal alors que la bilirubine " indirecte" n'est jamais retrouvée dans les urines. La bilirubine " indirecte " serait liée à des protéines et de ce fait ne pourrait passer la barrière rénale ; la bilirubine directe serait libre.

De leur côté, GREGORY et ANDERSH (44), montrent que la bilirubine de la bile et les solutions de bilirubinate de soude peuvent passer les membranes de collodion, puis GREGORY et ANDERSH, FORRAI et SIVO (39) par les techniques d'ultra filtration et de dialyse prouvent que la bilirubine libre sérique ne passe jamais à travers les membranes de collodion et le filtre rénal.

Selon BENHOLD (9), PEDERSEN et WALDENSTROM (69) qui utilisent les techniques d'électrophorèse et d'ultra filtration, la bilirubine est attachée à la sérum albumine. Ces travaux ont été confirmés par des études réalisées in vitro et consistant en addition de sérum à des solutions de bilirubinate de soude. Pourtant certains auteurs retiennent le rôle des globulines, dans le transport de la bilirubine BARRON,(16), GRAY, KORKWICK, BARAC (8), MARTIN (16) de la sérum albumine, ou des α_1 et α_2 globulines, DUESBERG (34) admet que la bilirubine dérivant de l'hémoglobine est liée à la globine.

Cette hypothèse est reprise par FIESSENGER, GAJDOS et POLONOVSKI (16) ; pour ces auteurs la bilirubinoglobine est responsable de la réaction indirecte, tandis que la bilirubinoalbumine donne la réaction directe.

Par la suite LEMBERG (16) émet quelques doutes sur l'existence de la bilirubinoglobine et BOURRILLON (16) en 1952 démontre par électrophorèse sur papier et sur amidon que la bilirubinoglobine n'existe pas.

En 1954, les japonais YAMAKOA et KOSAKA (89) donnent une nouvelle impulsion à ces travaux en découvrant que le pigment biliaire est un ester de bilirubine. COLE et LATHE (29), puis BILLING et LATHE (12), SCHMID (78) et TALEFANT (71) arrivent aux mêmes conclusions :

la bilirubine du sérum est une bilirubine libre

la bilirubine de la bile est conjuguée à l'acide glycu-

ronique en majeure partie, ce qui permet son excrétion ; il s'agit de mono et de diglycuronides.

C'est en fonction de ces données nouvelles que ce travail a été entrepris :

Il concerne 112 dosages de Bilirubine totale, libre et conjuguée, effectués sur des malades hospitalisés dans le Service du Professeur LEVRAT et du Docteur BRETTE (clinique médicale A) et groupant des ictères obstructifs (27 cas) ; des ictères infectieux (17 cas) ; des ictères chez des cirrhotiques (28 cas) et un nombre moins important de dosages concernant des ictères post-abortum (12 cas) provenant du Service du Professeur TRAEGER (Service de Néphrologie et des Maladies Métaboliques). Enfin 69 dosages, intéressant l'ictère hémolytique du nouveau né par iso immunisation rhésus, effectués dans différents services.

Tous ces dosages ont été effectués au CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE DE LYON (Laboratoire des groupes sanguins, Docteur JOUVENCEAUX).

Nous avons voulu dans ce travail rechercher quelles étaient la valeur du dosage de la bilirubine et de ses fractions dans le sérum.

Le taux des bilirubines du sérum est une valeur fugace " instantanée " reflet d'un équilibre entre les deux processus dynamiques de leur production à partir du pigment respiratoire sanguin et de la métabolisation par l'hépatocyte.

Le dosage des bilirubines " seul moyen d'étude offert au clinicien ", constitue une approche indirecte aux problèmes physiopathologiques posés par le métabolisme normal de la bilirubine et ses erreurs congénitales ou acquises. C'est pourquoi, il nous a paru opportun de faire procéder l'apport expérimental de ce travail par une revue des faits étudiés dans la littérature de ces dernières années.

P R E M I E R E P A R T I E

LE METABOLISME NORMAL DE LA BILIRUBINE

I - LE METABOLISME NORMAL DE LA BILIRUBINE.

I - ORIGINES.

La bilirubine provient du catabolisme de l'hémoglobine. Cette transformation a lieu dans l'ensemble du système réticul endothélial. Pendant la durée normale de vie des globules rouges, soit 120 jours, l'hémoglobine ne subit pas de transformation appréciable, puis ce pigment se dégrade en se transformant dans les globules rouges eux-mêmes (0,3 à 0,5 % de l'héme de l'hémoglobine) et dans la rate, en bilirubine qui est par la suite excrétée par le foie.

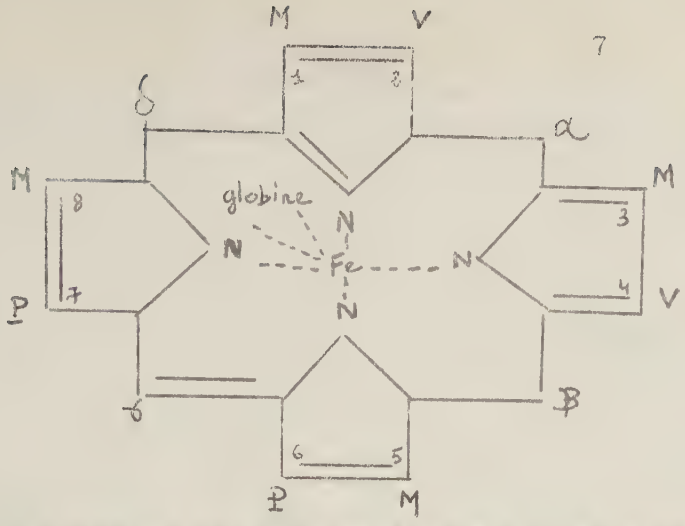
Cependant l'étude de la glycine marquée avec 15 N ou 14 C et l'acétate marqué au 14 C a montré que les pigments biliaires pouvaient être formés au cours des processus de synthèse de l'hémoglobine, ou provenir de la dégradation d'hémochromoprotéides non hémoglobiniques, tels que le cytochrome C, la myoglobine, la catalase. Dans certains états pathologiques (porphyries aiguës ou congénitales) les pigments biliaires seraient essentiellement formés aux dépend des corps participant à la synthèse de l'hémoglobine. Les pigments biliaires seraient alors soit des sous-produits de porphyrines, soit le résultat de précurseurs ne possédant pas la structure des porphyrines :

L'hémoglobine est formée :

d'une protéine : la globine

d'un groupement prosthétique: l'héme constitué par un groupement porphyrinique uni à un atome de fer. Nous en rappelons ci-après la formule :

.../...



Hémoglobine -

M = CH_2 (méthyle)

V = CH = CH_2 (vinyle)

P = CH_2-CH_2-COOH (propyle)

Le passage de l'hémoglobine à la bilirubine se fait en trois étapes :

1° - ouverture du cycle tétrapyrrolique par oxydation au niveau du carbone alpha (probablement par un enzyme spécifique), ce qui donnerait naissance à la choleglobine,

2° - perte du fer avec formation de biliverdinoglobine,

3° - dénaturation de la globine et apparition de biliverdine, bientôt réduite en bilirubine (la réduction de biliverdine en bilirubine parait être provoquée par la désydrogénase lactique). La bilirubine ainsi formée dans l'ensemble du système réticuloendothélial (dont la rate) est transportée par le sang vers le foie, qui assure son excrétion après conjugaison à l'acide glycuronique.

RESUME DES ETAPES PRINCIPALES DE LA BILIGENESE (d'après NIEMANN et PIERSON) (64).

Pigments porphyriniques — Hémoglobine — Myoglobine

ouverture oxydative en

Choléglobine

arrachement du fer et de la globine (+ H_2)

Biliverdine

+ H_2

Pigments tétrapyrroliques ouverts

Bilirubine

+ H_2 (intestin)

Mésobilirubine

Urobiline Stercobiline

Pigment pyrrolique — Mésobilifuscine

II - ETAPE SANGUINE.

Depuis les travaux de YAMAKOA et KOSAKA (89), puis de BILLING et LATHE (12) on sait que la bilirubine se présente de deux façons différentes : la bilirubine du sérum normal est une bilirubine libre (non conjuguée)

la bilirubine de la bile est une bilirubine conjuguée à l'acide glycuronique. Elle se présente plus particulièrement sous forme de mono et de diglycuronides.

La bilirubine libre représente donc l'ancienne bilirubine " indirecte " et la bilirubine conjuguée la bilirubine " directe " selon la terminologie d'HIJMANS VAN DEN BERG.

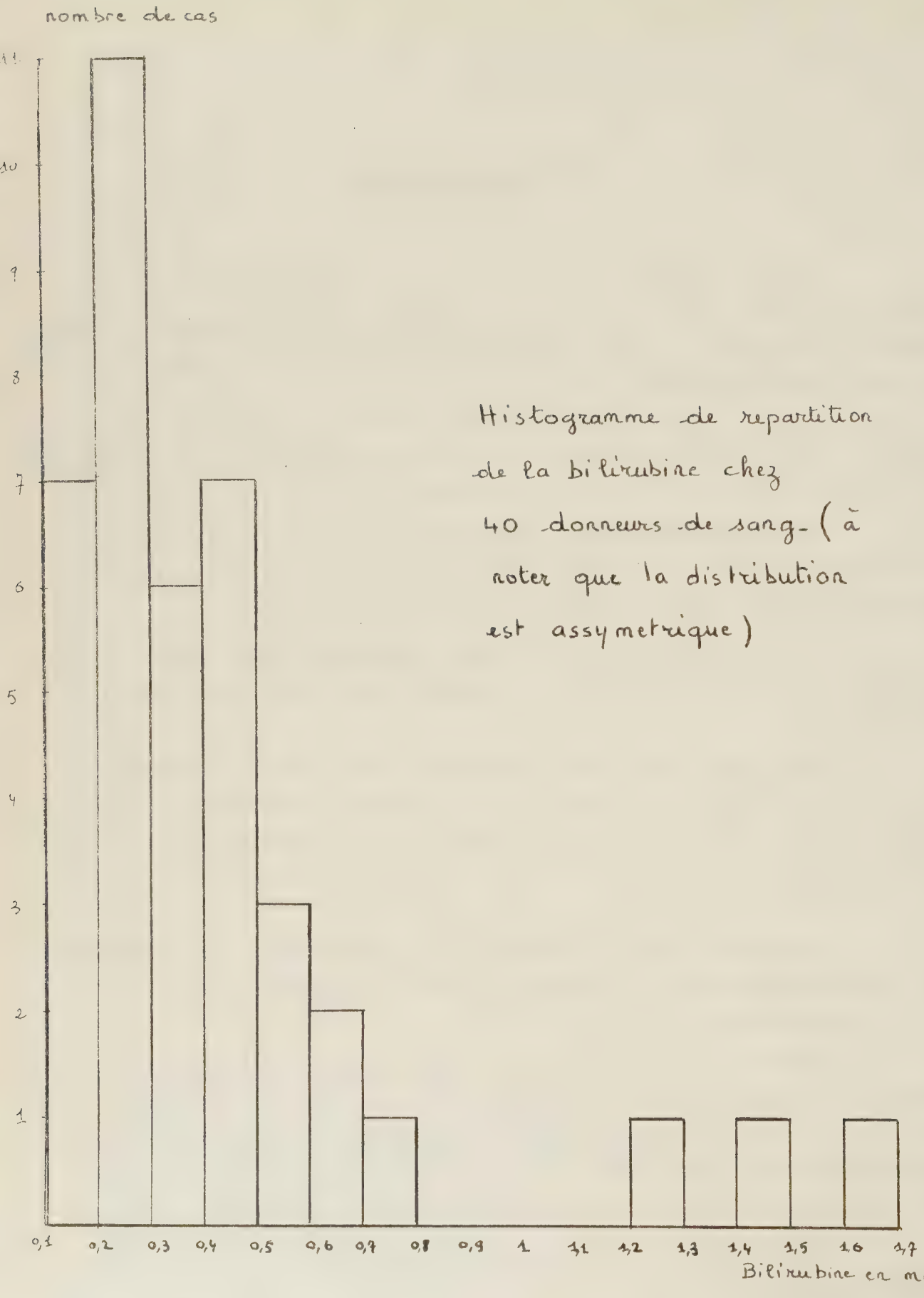
Au cours de cet exposé, nous adopterons les termes de bilirubine libre et de bilirubine conjuguée afin d'en faciliter la compréhension.

Nous avons déjà fait remarquer que le mode de transport de la bilirubine dans le plasma avait soulevé de nombreuses hypothèses, chaque auteur essayant d'expliquer par le mode de liaison à des protéines sériques, les différences déjà connues et établies par HIJMANS VAN DEN BERG.

Rappelons que pour BENHOLD (9), PEDERSEN et WALDENSTROM (69) la bilirubine est attachée à la sérum albumine, pour BARRON (16) à une globuline.

KLASIKIN en 1957 (54) reprenant toutes ces hypothèses les soumet à l'expérimentation. Il emploie en particulier l'électrophorèse à des pH différents et conclut que dans le plasma les deux sortes de bilirubine sont liées et véhiculées par la sérum albumine et pour une infime partie (0,05 mg. pour 100 ml.) par une α_1 globuline.

Les méthodes de dosage sont nombreuses. Aucune n'a reçu d'accord unanime.



Histogramme de repartition de la bilirubine chez 40 donneurs de sang. (à noter que la distribution est assymetrique)

Il existe au moins deux types de méthode pour le dosage de la bilirubine libre.

La première consiste à mesurer la bilirubine libre par différence entre la bilirubine totale et la bilirubine conjuguée.

La deuxième utilise la solubilité élective de la bilirubine libre dans les solvants organiques, soit le chloroforme, soit le benzène.

La méthode employée dans cette étude est celle mise au point par le Docteur JOUVENCEAUX : elle s'attache à la réalisation d'une solution de bilirubinate de sodium dans du sérum pur ramenée au pH humain ayant servi à la préparation. (Voir l'addendum).

Le taux normal de bilirubine libre du sang normal est de 0,2 à I mg. pour 100 ml. de plasma (avec la méthode du Dr. JOUVENCEAUX). La pigmentation de l'ictère peut être décelée à partir de 3 mg. pour 100 ml. Elle devient évidente à 7 - 8 mg. pour 100 ml. Une étude statistique réalisée chez quarante sujets donneurs de sang a montré que la bilirubinémie s'étendait de 0,1 à 0,8 mg. pour 100 ml. chez 37 donneurs,avec une moyenne de 0,35 mg. pour 100 ml. Trois présentaient des taux élevés : 1,27 - 1, 1,7 et devaient être considérés comme des cholémiques. (figure)

Les études de FAUVERT et COLL. (37bis) sur la clearance de la bilirubine montrent que chez le sujet normal, la clearance fractionnelle de la bilirubine est de 2,3 % avec comme extrême 1,2 et 4,6. La dispersion des valeurs de la clearance de la bilirubine est considérable : ceci doit sans doute être rapproché de la variabilité du taux de la bilirubine sérique.

Après une injection de 100 mg. de bilirubine en solution albumineuse (59) l'étude du pourcentage de rétention calculé entre la 10ème minute et la fin de la 2ème heure permet de constater chez les sujets normaux une rétention généralement inférieure à 40 %, souvent plus basse, et dont le chiffre moyen est de 24,9 % ($\pm$ 5,3) mais non constante et variable d'un sujet à l'autre.

La clearance de la Brome sulfone phtaléine (BSP) utilisée

comme test d'exploration de la fonction hépatique est supérieure à celle de la bilirubine : 14,5 $\pm$ 3,5 (moyenne $\pm$ 2 déviations standard).

Ceci a permis d'évaluer les taux de production et d'élimination biliaire qui s'équilibrent et oscillent entre 200 et 400mg. par 24 heures (FAUVERT) (36).

III :- ETAPE HEPATIQUE DE LA BILIRUBINE.

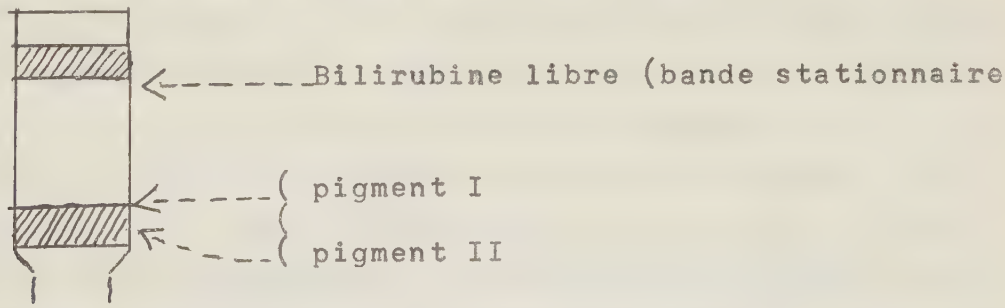
a) LES TRANSFORMATIONS CHIMIQUES.

Cette étape est mieux connue depuis les travaux de YAMAKOA et KOSAKA (89) qui ont montré que le pigment biliaire était un ester de bilirubine. Les modalités du transfert du complexe bilirubine-sérum albumine dans la cellule hépatique ne sont pas connues : on peut penser soit à une dissociation de l'albumine à la surface de la cellule, soit à un phénomène de pinocytose.

De toute façon à l'intérieur de la cellule parenchymateuse les groupements carboxyles de l'acide propionique de la bilirubine sont estérifiés avec l'acide glycuronique ; la preuve de cette liaison est sa labilité en milieu alcalin.

COLE et LATHE, BILLING (29) ont séparé la bilirubine à réaction directe de la bilirubine à réaction indirecte, à partir du sérum ictérique déprotéinisé en utilisant les méthodes chromatographique et électrophorétique.

La bilirubine à réaction directe, élaborée par le foie (bilirubine conjuguée) s'avère alors composée de deux pigments nommés pigment I et pigment II, chacun d'eux donnant également une réaction directe. Le chromatogramme est ainsi représenté :



La bande stationnaire est présente dans tous les sérums ictérique a été identifiée comme étant la bilirubine libre.

Le pigment à plus forte polarité ou pigment II est le principal représentant de la bile et avec le pigment intermédiaire ou

pigment I il est retrouvé dans les urines d'ictériques et dans les sérums des ictères obstructifs et infectieux.

Il résultait des travaux de FISHER et HABERLAND (13), OVERBEEK (13), SCHACHTER (74), que le pigment II est un ester diglycuronide tandis que le pigment I est un monoglycuronide. Cependant les travaux de COLE, LATHE et BILLING (29) et ceux plus récents de NOSSLIN (66) puis SCHALM et WEBER (45) plaident en faveur de la composition mixte du pigment I : ce serait un complexe de bilirubine et de diglycuronide.

Diverses expériences ont été tentées afin de définir le lieu de formation de ces différents composés.

La bilirubine libre apparait dans le sérum de chien, de rats après hépatectomie et nephrectomie, ou après destruction hépatique totale au moyen de tétrachlorure de carbone ou d'étionine. Il n'y a pas de diglycuronide formé en l'absence de foie, et puisqu'il est le pigment biliaire prédominant, le foie serait responsable de sa formation (BOLIMANN, SCHOENFIELD et HOFFMANN(79).

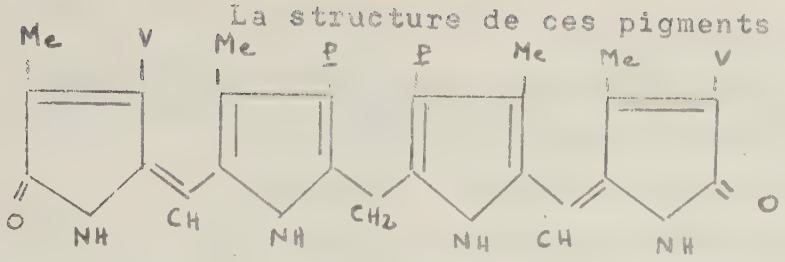
L'obstruction biliaire expérimentale chez l'animal, est caractérisée par une prédominance de diglycuronide dans le sérum (reflétant donc l'aspect de la bile normale et indiquant une activité hépatique conservée).

Chez les animaux ayant une atteinte hépato-cellulaire la bilirubine libre est le principal pigment sérique.

HOFFMANN (49) s'est efforcé d'établir la signification des proportions relatives de mono et de diglycuronides au cours des ictères ; la question n'est pas actuellement élucidée.

HOFFMANN constate une prédominance de pigment II dans le sérum (diglycuronide) de 87,9 % de malades atteints d'ictère obstructif extra hépatique et réciproquement, le pigment I est le principal pigment dans le sérum de malades atteints d'hépatite. Quoiqu'il en soit ces examens ne sont pas passés dans la pratique courante et nous ne les citons que pour mémoire.

La structure de ces pigments est la suivante :



Me = Méthyle
V = Vinyle
P = Propyle.

Bilirubine R I = R II = H
Pigment I R I = Glycuronyl
R II = H

Pigment II = R I = R II = Glycuronyl

A côté de la glycuro conjugaison il existe un deuxième processus mis en lumière par les travaux d'ISSELBACHER et Mac CARTHY (13).

En effet la bilirubine conjuguée est facilement convertie en bilirubine libre par le traitement alcalin doux, cependant cette conversion n'est pas complète et il faut en conclure que la conjugaison n'est pas le seul fait de l'acide glycuronique.

Une certaine proportion de pigment est conjuguée à un sulfate, qui, à la différence de la liaison glycuronique se trouve à la fin de la chaîne bilirubinique.

Tandis que le pigment stable à l'alcali, est présent en tant que sulfoconjugué, il existe aussi une petite proportion de pigment conjugué qui est labile aux alcalis et cependant n'est pas hydrolysée par la β glycuronidase, ce qui suggère la présence d'autres conjugués de bilirubine.

JIRSA et COL. (13) ont également préparé des tauro et glyco-conjugués de bilirubine, qui se comportent de la même manière que les pigments naturels, mais il n'est pas prouvé qu'ils existent dans la nature. La proportion d'alcali-stables présents dans le sérum des ictériques est variable et représente de 10 à 40 %.

Il est donc admis actuellement que la bilirubine du sérum des sujets normaux est entièrement composée de bilirubine libre ou indirecte

que - la bilirubine subit alors de sa traversée hépatique en particulier différentes transformations : glycuro et sulfo conjugaison et donne alors avec le

réactif d'EHRLICH la réaction directe.

Bilirubine libre et bilirubine conjuguée présentent certaines différences résumées dans le tableau suivant :

Propriétés	Bilirubine libre	Bilirubine conjuguée
Réaction d'H.V.D.B.	Indirecte	Directe
Solubilité en phase acqueuse à pH acide ou neutre	-	+
Solubilité dans le chloroforme et les solvants des lipides	+	-
Apparition dans les urines d'ictérique	-	+
Apparition de la bile	-	+
Affinité pour les tissus nerveux	+	-
Liaison aux protéines plasmatiques	+	+
Affinité pour les protéines dénaturées du plasma	-	+
Facilité d'oxydation	+	++
Photosensibilité	++	+

(D'après BILLING et LATHE) (12)

b) LE SYSTEME ENZYMATIQUE DE LA GLYCURO CONJUGAISON BILIRUBINIQUE.

En 1955, STOREY et DUTTON (80), puis DUTTON (35) en 1956, décrivent un système de conjugaison de l'acide glycuronique avec

des alcools variés. L'uridine diphospho-glycuronyl transférase est apparemment capable de transférer l'acide glycuronique sur les groupes carboxyle, amine, alcoolique et phénolique.

Ce système enzymatique est localisé dans les microsomes du foie et a recours à l'acide diphosphoglycuronique. ARIAS (1) a montré en effet que les microsomes de rats de race WISTAR ou rats de GUNN (du nom du généticien canadien qui les a décrits)et qui sont atteints d'ictère chronique non hémolytique à bilirubine indirecte, de caractère génétique, conjuguent 40 à 60 % moins de bilirubine que les rats normaux.

Ces rats ne présentent pas d'altération de la fonction excrétoire, l'épreuve de la B.S.P. est normale, leur bile est peu colorée et contient seulement de la bilirubine libre, à concentration moindre que dans le plasma. L'excrétion de l'urobilinogène fécal est diminuée mais peu par rapport à celle des rats normaux.

Ces rats semblent avoir pourtant une petite fraction de parenchyme fonctionnel, puisqu'ils sont capables de conjuguer l'oaminophénol, mais à des taux moindres que les rats normaux.

ARIAS, JONHSON et WOLFSON (4) ont réalisé chez ces mêmes rats les expériences suivantes :

L'injection de bilirubine libre intra-veineuse, amène une élimination biliaire de cette même bilirubine libre, et pas du tout de bilirubine conjuguée, alors que chez le rat normal presque toute la bilirubine libre se retrouve sous forme conjuguée.

L'injection de bilirubine conjuguée donne une excrétion similaire dans la bile des rats WISTAR et des rats normaux.

Après injection intra-veineuse de bilirubine glycuro conjuguée, les pigments conjugués apparaissent dans la bile à des concentrations qui sont 50 à 100 fois plus élevées que dans le plasma.

Des résultats semblables ont été obtenus avec des récepteurs glycuroniques comme le 4 méthyl 7 hydroxycoumadine. Il semble s'agir essentiellement d'une déficience isolée en transférase glycuronique, car les activités de la glucose 6 phosphatase, des esté-

rases et de la 5 nucléotidase sont normales. Des études histochimiques du foie n'ont rien mis de particulier en évidence si ce n'est la présence de nombreuses gouttelettes lipidiques dans les cellules de KUPFER, alors que les hépatocytes en sont dépourvus. Au microscope électronique, de nombreuses cellules hépatocytaires présentent des modifications du réticulum endoplasmique. GOLDFISCHER,ARIAS (13) et COL. observent par l'histochimie alliée à la microscopie électronique un changement dans l'activité des phosphatases alcalines et de l'adénosine triphosphatase de la membrane cellulaire des sinusoïdes (qui apparaissent dilatés, fragmentés, vésiculés) et dans le nombre et la répartition des lysosomes.

L'obstruction extra hépatique montrerait les mêmes altérations dans la cytochimie des cellules hépatiques.

ISSELBACHER en 1956 (56) décrit le même mécanisme pour les stéroïdes.

LATHE et WALKER (56) étudient le taux de conjugaison de la bilirubine et de l'o-amino phénol dans des broyats et des suspensions de foie, ne trouvent aucun parallélisme entre ces deux substances. Ils considèrent que l'inhibition causée par l'addition de l'o-aminophénol est du type compétitif.

GRODSKY et CARBONE (46) parviennent aux mêmes résultats avec le bornéol comme substrat. Il reste à savoir dans quel ordre procède la glycuroconjugaison, et s'il existe une ou deux glycuronyl transférases.

SCHMID et COL. (78) suggèrent qu'il n'existe qu'un seul système enzymatique. En effet in vivo, les animaux aussi bien que les hommes ayant un déficit en glycuronyl transférase (et par conséquent de la difficulté à conjuguer la bilirubine) éprouvent ces mêmes difficultés pour des substances telles que le menthol, le salicylate, la cortisone, l'acide p-amino benzoïque ; ces substances servent d'ailleurs à tester la capacité de conjugaison du foie.

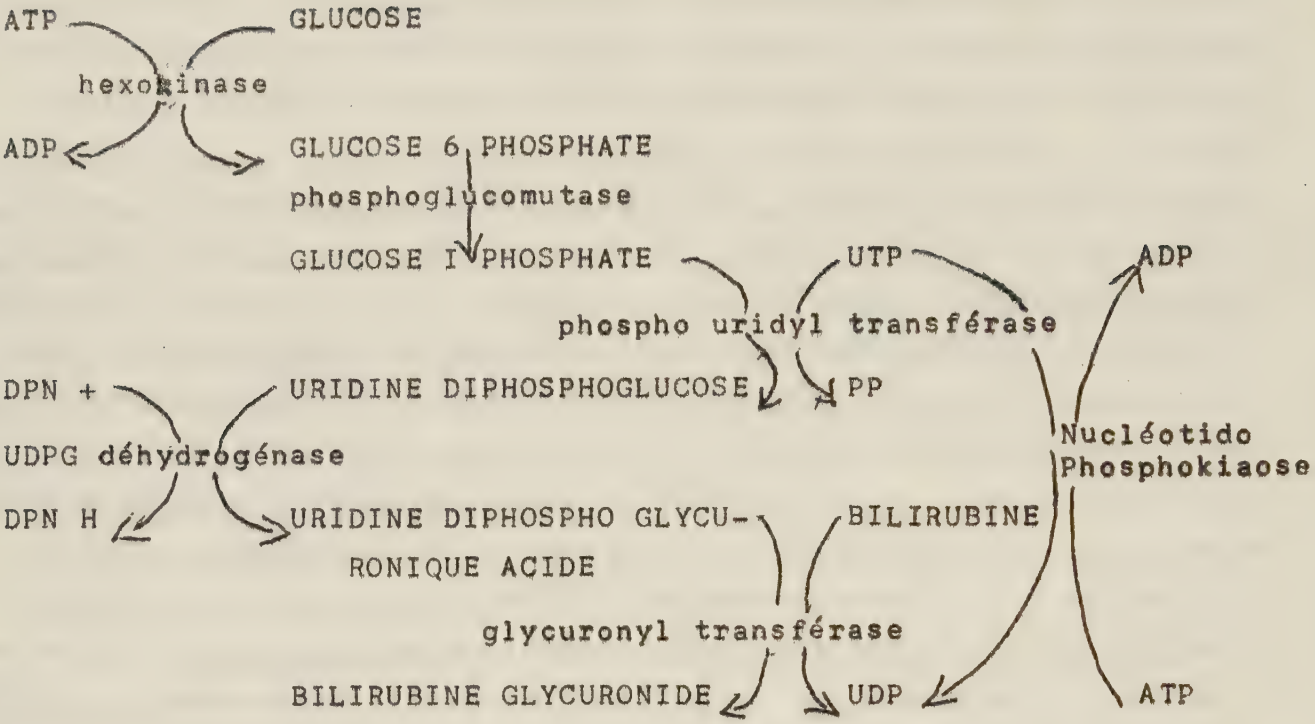
Ce système de conjugaison de la bilirubine serait présent dans les particules cellulaires et absent de la phase soluble du cytoplasme (LATHE et WALKER) (56) ce qui s'accorde avec les données d'ARIAS (4).

La conjugaison de la bilirubine a pu être démontrée in vitro dans le rein et l'intestin ; mais il n'est pas prouvé que ce mécanisme ait un rôle important à l'état normal en dehors du foie.

In vitro, il est possible de modifier la glycuro conjugaison. C'est ce qu'ont montré TALAFANT et TOVAREK (82). Certaines substances sont activatrices : ce sont le glycuronate de potassium, l'éthylénediamine tétra-acétate 5.10^{-4} M. , la cystéine et surtout le saccharate acide de potassium, l'adénosine triphosphate n'ayant qu'un faible pouvoir activateur et à un pH de 7,5 au moins. Par contre la glycuronoconjugaison est abolie par la glycuronidase d'origine bactérienne. La 4 méthyl 1,4 naphtoquinone et l'hydroquinone correspondante inhibent la formation des esters glycuroniques de bilirubine à la concentration de 10^{-4} M probablement en inhibant l'action de l'uridine diphosphoglucose deshydrogénase. La vitamine K active la formation de la bilirubine directe uniquement en présence d'homogénats de foie total, probablement par l'apport d'un mécanisme de phosphorylation oxydative.

Le mécanisme possible de la glycuro conjugaison d'après BILLING et LATHE (12) est reproduit sur le tableau suivant :

.../...



Mécanisme possible de glycuroconjugaison de la bilirubine
d'après BILLING et LATHE (12)

Il nous reste enfin à décrire la dernière étape parcourue par la bilirubine :

.../...

IV - ELIMINATION DE LA BILIRUBINE.

La bilirubine déversée avec la bile dans l'intestin, subit l'action des bactéries qui provoquent l'hydrolyse des glycuroconjugués. Elle est ensuite hydrogénée pour donner successivement naissance à la meso-bilirubine, puis au mesobilirubinogène ou urobilinogène. Ce dérivé qu'on peut préparer par action de l'amalgame de sodium sur la bilirubine, peut subir une oxydation, qui le prive d'un hydrogène et le transforme ainsi en urobiline. En fait, il est actuellement admis que le terme d'urobilinogène correspond à trois pigments différents dont on connait les chromogènes respectifs, soit :

- le mésobilirubinogène avec l'urobiline IX comme produit d'oxydation.
- le stercobilinogène avec la stercobiline comme produit d'oxydation.
- le d-urobilinogène avec la d-urobiline comme produit d'oxydation.

Ces trois chromogènes réagissent de façon positive avec le réactif d'EHRLICH (réaction urobilinogène) tandis que les produits d'oxydation donnent une réaction positive avec le réactif de SCHLESINGER (solution alcoolique d'acétate de zinc) (réaction urobiline) et il est possible de différencier ces trois groupes de substances par la réaction de FIESHER NIEMANN.

Il a été établi avec certitude que la bilirubine est la substance mère des trois variétés d'urobilinogènes et d'urobilinæ. Toutefois les opinions concernant le siège de la dissociation de la bilirubine sont encore divergentes :

WATSON est partisan d'une transformation dans l'intestin de la bilirubine en mésobilirubinogène qui aboutit lui-même au stercobilinogène.

BAUMGARTEL (7) soutient que la transformation de la bilirubine en stercobilinogène s'opère en dehors de l'intestin, dans les voies biliaires.

Pour BRANDT, ces deux produits sont d'origine exclusivement intestinale. Il est possible en effet de mettre en évidence la présence de mésobilirubinogène et de stercobilinogène dans la bile, et de mésobilirubinogène en même temps dans les fèces et les urines (17).

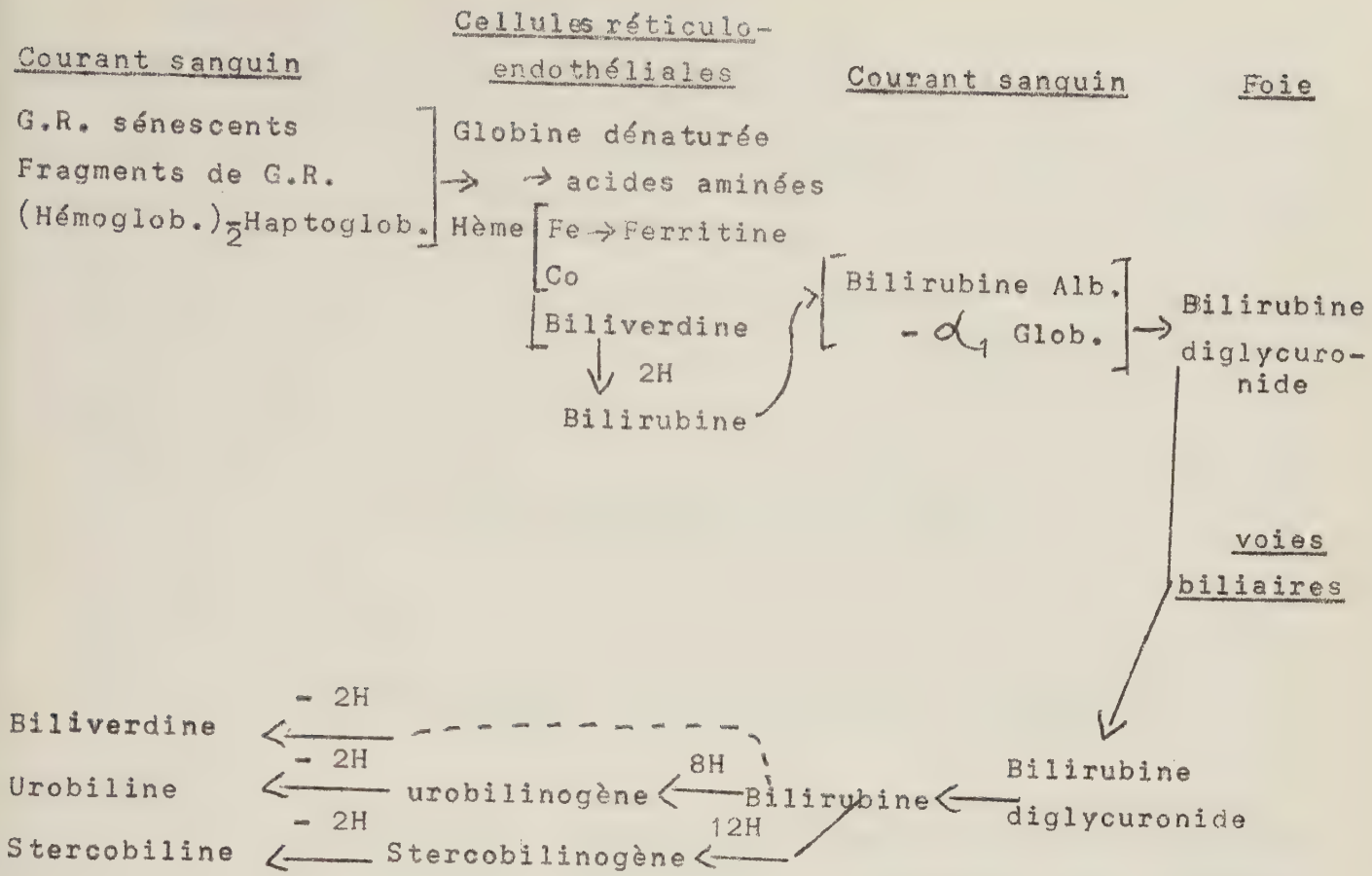
Des échantillons de bile prélevés à la sonde dans les cas où cette dernière ne pouvait atteindre l'intestin, ne relèvent ni mésobilirubinogène ni stercobilinogène. Dans les cas où l'accès de la bile à l'intestin était normal, ces deux substances étaient retrouvées.

Quant à la formation du d-urobilinogène elle est encore mal connue, ce corps proviendrait peut être de modification de la flore intestinale sous l'action d'antibiotiques à large spectre.

La recherche globale de ces trois pigments sous forme oxydée, grâce à la fluorescence de leur complexe zincique et sous forme réduite au moyen du réactif d'EHRLICH représente un test d'exploration fonctionnelle de la cellule hépatique, tout au moins pour les auteurs de langue anglaise.

Stercobiline et urobiline sont éliminées par les matières fécales et les colorent, d'où l'absence de coloration des selles lors des rétentions biliaires. Ils sont en partie réabsorbés par la muqueuse intestinale et retournent au foie où ils contribuent probablement à former la bilirubine selon un cycle entérohépatique.

.../...



- Métabolisme des pigments biliaires -
d'après S. GRANICK et D. MAUZERALL
" The metabolism of Hème and Chlorophyll Metabolic Pathways " - Edited by D.M. GRENNBERG, vol. II - 1961 - Academic Press, New York and London.

D E U X I E M E P A R T I E

LE METABOLISME PATHOLOGIQUE DES BILIRUBINES

Nous désirons envisager brièvement les déviations pathologiques du métabolisme des bilirubines en adoptant une classification simple qui tient surtout compte des faits physiopathologiques, c'est-à-dire en étudiant deux grandes catégories :

- Les ictères à bilirubine libre (ou indirecte)
- Les ictères à bilirubine mixte (c'est-à-dire libre plus conjuguée).

I - ICTERES A BILIRUBINE LIBRE

C'est le domaine actuellement le mieux connu et prêtant le moins à contestation ; il comprend en effet :

- Les ictères par défaut de conjugaison de la bilirubine dûs à une absence ou à une déficience en glycuronyl transférase :
  - Ictère du nouveau-né.
  - Syndrome de CRIGGLER-NAJJAR.
  - Dysfonctionnement hépatique constitutionnel ou maladie de GILBERT.
- Les ictères hémolytiques.

Ces deux catégories d'ictère ont en commun une hyperbilirubinémie variable de 1,5 à 20 mg/100 ml de sérum. Il existe pratiquement toujours de la bilirubine glycuro conjuguée dans une proportion inférieure à 5 à 10 % de la bilirubine totale. La stercobiline fécale est normale ou diminuée. Un ictère nucléaire est possible du fait de la solubilité élective de la biliburine libre pour des lipides structuraux.

a) Ictère du nouveau-né :

Le foie foetal est le signe d'un grand nombre de défauts enzymatiques, retentissant sur la synthèse de l'acide glycuronique, mais le facteur primaire du défaut de conjugaison et, par suite, du développement de l'ictère est la déficience en glycuronyl transférase et même en uridine diphospho gluco desydrogénase. (BROWN et ZUELZER (18). Ceci a été démontré par l'adjonction artificielle et successive, aux réactions de synthèse, de différents donneurs : acide uridine diphosphoglucose puis uridine diphosphoglucose + diphosphonucléotide (D.P.N.). Leur mise en présence de tissu hépatique foetal montre la faillite de la glycuronyl transférase et de l'uridine diphosphogluco deshydrogénase.

HSIA, YI YUNG et COL. (50)ont suggéré que les agents progestatifs existant dans le sérum de femmes enceintes, pouvaient inhiber la glycuronyl transférase et contribuer à l'ictère du nouveau-né. Plus récemment,il a été avancé que des stéroïdes inhibiteurs seraient apportés à l'enfant par le lait maternel.

Cependant les expériences de SCHOENKER, DAWBER et SCHMID (76) consistant à perfuser le placenta avec différentes sortes de bilirubine marquée et à voir l'excrétion chez la mère montrent que le foie foetal n'est pas apte à la conjugaison.

Normalement la bilirubine plasmatique est comprise entre 0,5 et 10 mg/100 ml.de sérum entre le troisième et le septième jour. Ce maximum est d'autant plus élevé et plus tardif que le poids de naissance est plus faible (BILLING, 10). D'autre part il n'y a pas de relation étroite entre l'hyperbilirubinémie et l'ictère clinique (BOGIN 15).

b) Maladie de GILBERT.

Cette affection est caractérisée par une augmentation isolée de la bilirubine libre de 4 à 18 mg/100 ml. et par une absence de bilirubinurie. Le stercobilinogène fécal est à un taux subnormal. L'exploration hépatique est normale (B.S.P. radiographie des voies biliaires). On a pu démontrer in vitro le défaut de conjugaison sur des fragments de foie prélevés par biopsie aspiration ; ARIAS (3) a prouvé qu'il existe en plus une altération du réticulum endoplasmique.

Pour KUHN (55), le trouble n'est pas dû à un déficit en glycuronyl transférase mais plutôt à un ralentissement de la cinétique de la glycuronyl transférase. En effet l'administration per os, de deux grammes de menthol montre une élimination maximale urinaire de glycuroconjugués de menthol atteinte en 2 heures chez le sujet normal ; en 4 à 5 heures dans la cholémie de GILBERT. Les taux d'élimination sont équivalents dans les deux cas.

c) Syndrome de CRIGLER-NAJJAR (30).

C'est un syndrome qui présente un caractère familial.

La bilirubine sérique augmente quelque temps après la naissance,elle atteint de 12 à 45 mg/100 ml. L'urobilinogène fécal est bas. Le foie est inapte à conjuguer le menthol, le salicylate, la tétrahydrocortisone. Il y a peu de pigments biliaires dans la bile (SCHMID 78). Les parents non ictériques ont une capacité à la glycuroconjugaison inférieure à la normale. Il y aurait transmission d'un gène recessif par des parents hétérozygotes. Le plus souvent il se développe un ictère nucléaire. Ce syndrome serait équivalent de celui observé chez les rats homozygotes de GUNN.

d) Ictère hémolytique (52).

L'ictère hémolytique à l'état pur est réalisé chez le nouveau-né, par l'iso immunisation rhésus. C'est le type même de l'ictère " préhépatique ". Il est caractérisé par une hyperproduction de bilirubine, par des signes médullaires et érythrocytaires, qui traduisent la libération exagérée de l'hémoglobine. La production et l'élimination sont à peu près égales.

II - ICTERES A BILIRUBINE MIXTE

Nous envisagerons brièvement chacun des groupes suivants:

- Défaut congénital, c'est-à-dire
  - le syndrome de DUBIN-JONHSON
  - le syndrome de ROTOR
- Les obstructions extra hépatiques
- Les hépatites
- Les cirrhoses

a) Syndrome de DUBIN JONHSON.

Frappant essentiellement le garçon. C'est un ictère transitoire. La bilirubine est en majorité de la bilirubine glycuro conjuguée environ 60 %. (DUBIN (33), CHARBONNIER (25), FAUVERT et COL. (38).

Il semble que le foie soit apte à conjuguer mais non à excréter la bilirubine. Il y aurait regurgitation par voie lymphatique ou sanguine. L'urobilinogène est augmenté ; l'excrétion de la B.S.P. montre une rétention lors des épisodes ictériques et entre temps une normalisation.

Le foie présente une pigmentation anormale, il s'agirait d'une mélanine provenant de la polymérisation de l'adénochrome (CHARBONNIER (26). Ce pigment interférerait avec les mécanismes excrétoires.

b) Syndrome de ROTOR, MANAHAN, FLORENTIN.

Cette anomalie s'objective par un ictère chronique et fluctuant. Il existe une augmentation mixte de la bilirubine libre et conjuguée. Les fonctions hépatiques sont normales ; l'exploration radiologique également. Il existerait dans le plasma une

proportion élevée de pigments non hydrolysables par la β glycuronidase et stables en milieu alcalin, ce qui soulève le problème de l'importance relative de la conjugaison glycuronique et sulfurique chez les malades. (SCHIFF, BILLING et COL. (77). L'injection intra veineuse de bilirubine montre une rétention considérable dans l'élimination de la bilirubine libre et de la bilirubine conjuguée. De même il y a rétention de la B.S.P. qui n'est pas conjuguée. Il semble s'agir d'un défaut de fixation de la bilirubine par le foie et la sécrétion de la bilirubine conjuguée.

c) L'ictère par obstruction extra hépatique (ou post hépatique).

Sa pathogénie est simple et ne porte guère à contestation. L'obstacle siégeant sur la voie biliaire principale est responsable d'un reflux biliaire vers le sang, puis vers les tissus ce qui explique l'apparition de l'ictère. La fonction de conjugaison n'étant pas altérée, du moins au début, il y a passage de bilirubine conjuguée à un taux important et par conséquent élimination urinaire. L'absence de pigments dans les selles est constante.

d) L'ictère des hépatites (ou ictère hépatique).

La première notion est celle d'une altération du parenchyme hépatique concrétisée par le syndrome de cytolyse et le syndrome hépatoprive. Il est également concevable que ces lésions hépatiques puissent entraver à l'échelle histologique le déversement normal des éléments de la bile dans les canaux biliaires, ou favoriser le reflux de ces éléments dans le sang. Divers mécanismes sont invoqués :

a/ dislocation des travées cellulaires (HANOT).

b/ présence de thrombi biliaires macroscopiques obstruant les canalicules biliaires intercellulaires entraînant un reflux biliaire dans le sang (ictère par obstruction intra hépatique) ou encore rétention biliaire intra hépatique dûe à une obstruction massive des capillaires biliaires par une profusion de magma de bile épaissie (CAROLI).

c/ et enfin mécanisme d'ordre fonctionnel basé sur une viciation du processus normal de la biligénie intra hépatique. (CACHERA et COL.)(19bis).

e) Quant à la pathogénie de l'ictère des cirrhoses alcooliques elle n'est pas moins complexe.

Il est classique de signaler qu'un ictère complique 1/3 à 1/5 des cirrhoses éthyliques. Plusieurs mécanismes ont été invoqués:

L'hémolyse (dont le rôle avait été souligné au début du siècle par CASTAIGNE, CHALIER) est généralement attribuée à l'hypersplénisme. On ne peut s'empêcher de remarquer que le mécanisme parait à priori insuffisant à expliquer à lui seul les ictères souvent intenses des cirrhoses éthyliques.

Une rétention extra hépatique a pu être retenue dans certains cas, à vrai dire exceptionnels de pancréatite extensive, voire de lithiases pancréatiques associées.

A l'hépatite infectieuse, la majorité des auteurs accorde un rôle prépondérant : qu'il s'agisse d'hépatite microbienne dûe à une surinfection d'origine intestinale (en particulier colibacillaire) ou plus fréquemment une hépatite virale " de rencontre " selon CHABROL.

Enfin, le processus cirrhotique lui-même en dehors de toute autre cause, parait être responsable de certains ictères chroniques. Ceux-ci témoins d'une poussée évolutive, seraient expliqués par les caractères particuliers de la sclérose diffusante et à évolution intercellulaire, et l'existence d'une cholothrombose microscopique obstruant les capillicules trabéculaires et péri lobulaires; cette cholostase intra hépatique est obligatoirement associée à des lésions cellulaires nécrosantes.

Il convient donc de distinguersous l'angle physiopathologique deux grandes classes d'ictères :

- Les ictères à bilirubine libre tels : l'ictère physiologique du nouveau-né qui s'expliquerait par un déficit transitoire

en glycuronyl transférase ; la bilirubine libre ne peut être excrétée et s'accumule dans l'organisme.

L'ictère hémolytique par iso immunisation rhésus, caractérisé par une libération exagérée d'hémoglobine à laquelle s'ajoute le mécanisme précédent.

- Les ictères à bilirubine mixte, moins bien connus au point de vue pathogénique. La valeur excrétrice du foie et donc sa capacité à glycuroconjuguer la bilirubine n'est théoriquement pas atteinte, du moins au début, mais la bilirubine conjuguée rencontre un obstacle sur les voies d'excrétion, et ne peut rejoindre la bile. Il se produit alors une régurgitation par voie lymphatique. Il y a alors coexistence dans le sang de bilirubine libre et de bilirubine conjuguée.

T R O I S I E M E P A R T I E

LE DOSAGE DIFFERENTIEL DES BILIRUBINES AU COURS DE L'EVOLUTION DES ICTERES

RESULTATS ET DISCUSSION

Plusieurs auteurs dont FAUVERT (38), MORETTI (63) ont tenté de séparer les ictères rétentionnels et les ictères infectieux par l'étude du rapport bilirubine libre/bilirubine totale (BL/BT).

Nous avons repris cette étude ; le rapport BL/BT définit la capacité d'épuration sanguine exercée par le foie vis-à-vis de la bilirubine libre, capacité d'épuration qui englobe en fait deux phénomènes :

- Capacité de conjugaison
- Capacité d'excrétion.

Nous devons insister sur la signification qu'il convient d'apporter à l'étude de BL/BT. En effet, si le rapport BL/BT est égal à 1 ou 100 pour 100 chez le sujet normal, il atteint la même valeur dans le cas d'hyperhémolyse avec hyperbilirubinémie libre ("préhépatique") et dans les maladies caractérisées par un défaut enzymatique en glycuronyl transférase. A l'inverse de l'état physiologique, la bilirubine totale est élevée dans ces deux derniers cas.

112 dosages ont été effectués chez des individus de sexe masculin atteints

a) - d'ictère rétentionnel soit 27 cas comprenant :
  7 néoplasmes pancréatiques
  3 néoplasmes secondaires du foie
  4 néoplasmes primitifs du foie
  9 lithiases cholédociennes
  1 lithiase vésiculaire
  2 épithélioma de l'ampoule de Vater.
  - d'ictère par hépatite (16 d'origine virale, 1 seul à leptospire) soit 17 cas.
  - d'ictère chez les cirrhotiques éthyliques (28 cas).

b) - chez les femmes atteintes d'hépatonéphrites post abortum, soit 12 dosages pour 11 cas.

c) - chez 20 nouveaux-nés frappés d'ictère hémolytique par iso immunisation rhésus soit 69 dosages.

A l'intérieur de chaque groupe, l'étude a porté sur la

recherche des corrélations entre.la valeur de la bilirubine totale et le temps écoulé depuis l'apparition de l'ictère d'une part,

. la valeur du rapport BL/BT et le temps écoulé depuis l'apparition de l'ictère d'autre part.

Nous nous sommes limités à l'étude des bilirubinémies ; la seule épreuve dont les résultats auraient pu être confrontés avec les dosages des bilirubines, l'épreuve de la B.S.P., n'a jamais été pratiquée. (Encore faut-il faire remarquer que si la B.S.P. fait appel à la fonction de conjugaison hépatique, l'élément réactif n'est pas l'acide glycuronique, mais le glutathion).

Nous avons dû traiter cette troisième partie de manière statistique. En effet, les résultats des dosages exprimés en fonction de la durée d'évolution, ne concernent pas un groupe limité de sujets étudiés de manière répétée ; cette dernière méthode qui pourrait paraître plus logique n'a pu être utilisée faute de prélèvements itératifs. Aussi avons-nous dû nous résoudre à considérer chaque groupe étiologique étudié comme une population homogène et à traiter les problèmes globalement. Comme on le verra plus loin ce traitement statistique des données expérimentales a entraîné certaines limitations dans l'interprétation et le raisonnement déductif. Les méthodes retenues pour l'analyse statistique sont les plus simples et les plus classiques. Le coefficient de corrélation entre deux variables a été calculé comme :

$$r = \frac{\Sigma (x-\bar{x})\ (y-\bar{y})}{N \sigma x\ \sigma y}$$ où $\bar{x}$; $\bar{y}$ représentent les moyennes arithmétiques et σx, σy, les déviations standard des distributions. La valeur r du coefficient a été testée grâce aux tables de FISHER et YATES :

Nous avons été très larges dans l'interprétation du coefficient de probabilité et nous avons retenu comme non significatif $P > 0,10$ - peu significatif $0,05 < P < 0,10$ (soit 5 à 10 chances sur 100 pour que la corrélation relevée soit dûe au hasard).

significatif $P \leq 0,05$.

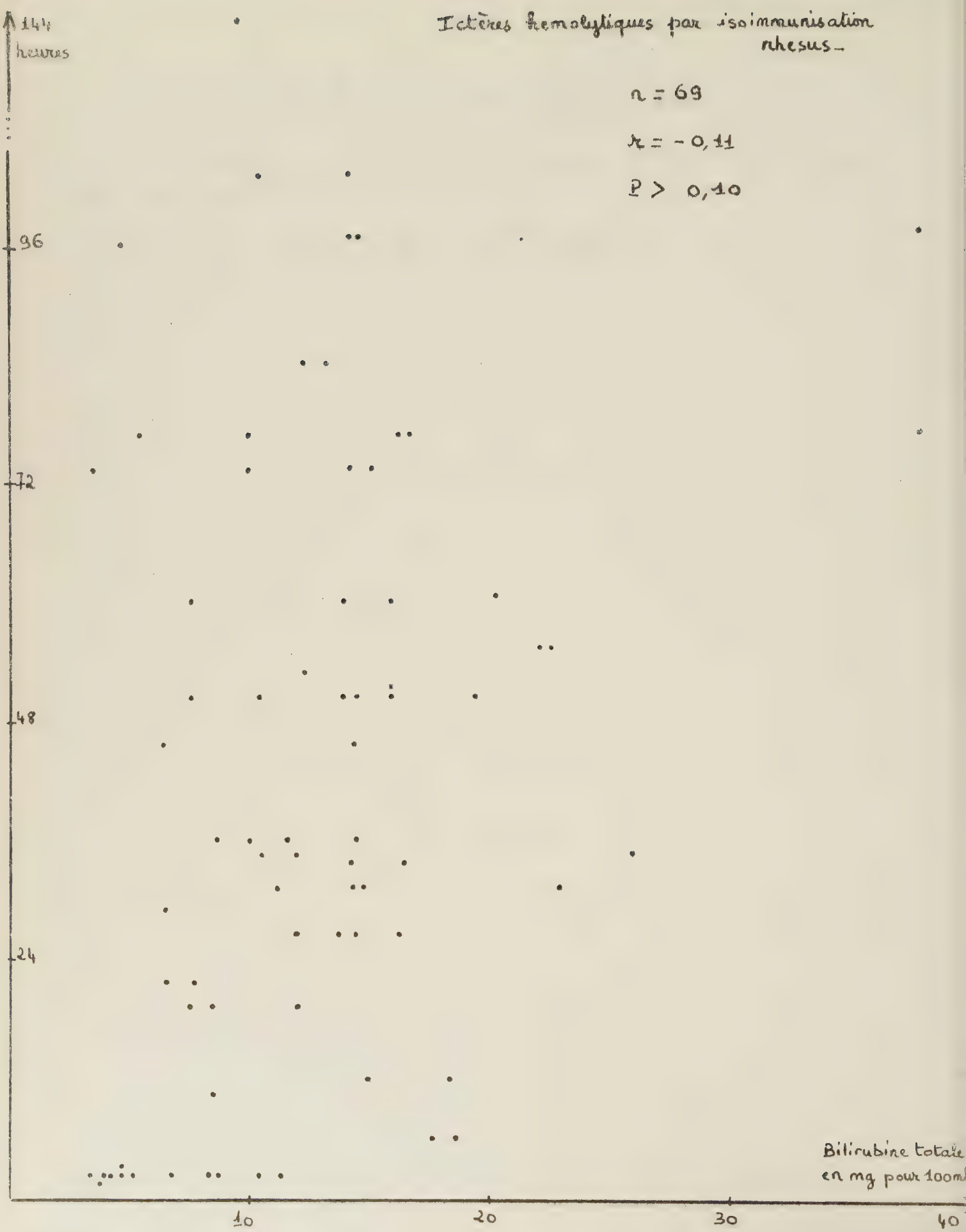
La recherche de la signification de la différence entre deux coefficients de corrélation a été conduite avec :

.../...

$$S^2 r_1 - r_2 = \frac{1 - r_1^2}{N_1 - 1} + \frac{1 - r_2^2}{N_2 - 1} \quad \text{et} \quad \frac{r_1 - r_2}{S r_1 - r_2} > 2$$

L'équation de la droite de régression de Y en X a été calculée comme :

$$Y = a X = \Sigma \frac{(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{(x - \bar{x})^2}$$


Ictères hémolytiques par isoimmunisation rhésus
n = 69
r = - 0,11
P > 0,10
144 heures
96
72
48
24
10
20
30
40
Bilirubine totale en mg pour 100ml

I - ICTERES HEMOLYTIQUES

A - EVOLUTION DE LA BILIRUBINEMIE TOTALE.

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

L'étude statistique de 69 cas d'ictères hémolytiques néonataux par incompatibilité rhésus, montre l'absence de corrélation entre d'une part, le taux de bilirubinémie totale, d'autre part, le délai écoulé depuis l'apparition de l'ictère (de la 2ème heure à la 144ème heure) ($r = -0,11$; $P > 0,10$).

Soixante deux fois sur soixante neuf cas soit dans 90 % des cas, la bilirubinémie totale est comprise entre 3,5 et 20 mg pour 100 ml.

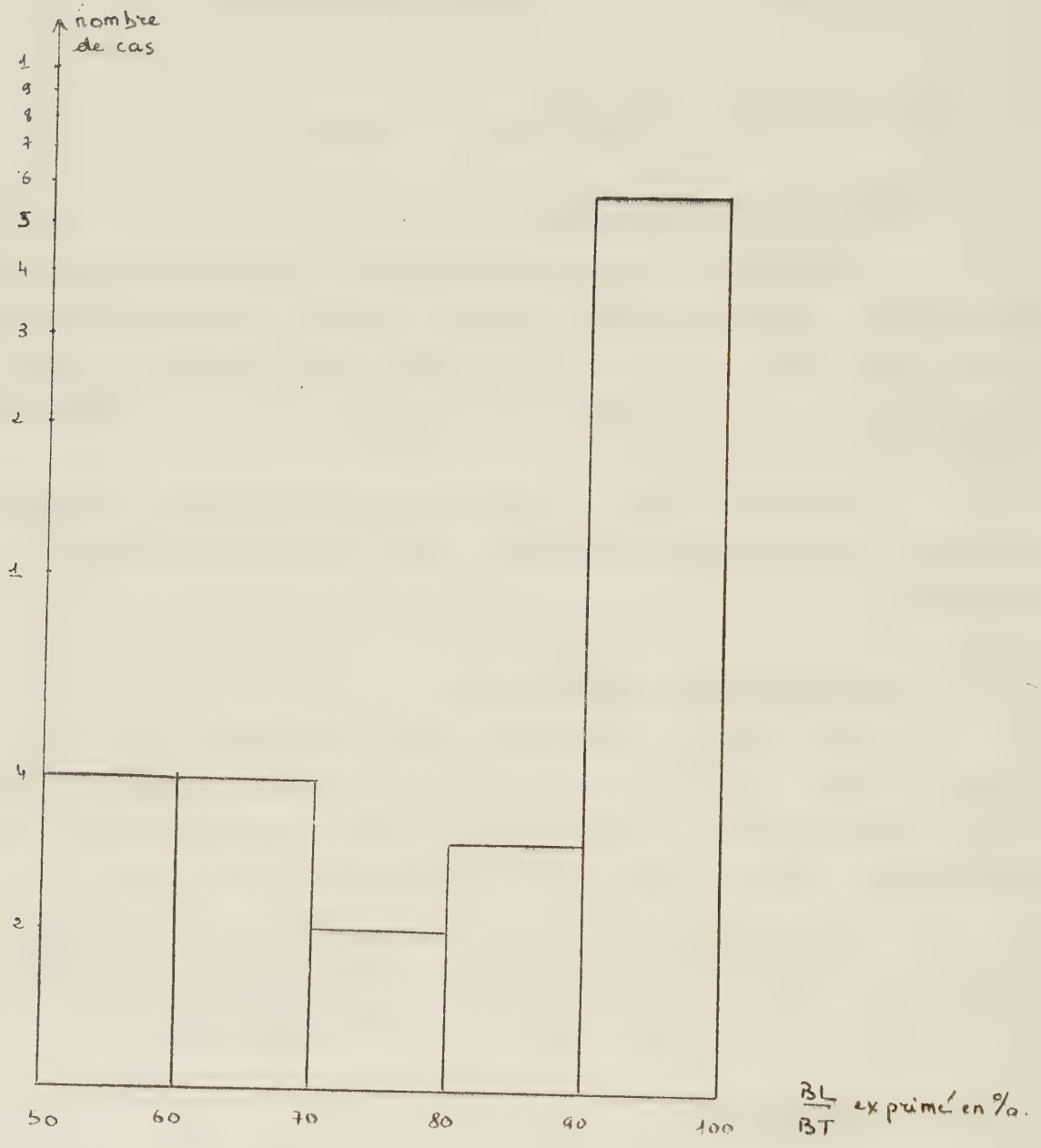
II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

BILLING (10) rencontre dans les mêmes conditions, des taux compris entre 0,5 et 10 mg pour 100 ml entre le 3ème et 7ème jour. Le taux maximum est d'autant plus élevé et se manifeste d'autant plus tardivement que le poids de naissance est plus faible.

JOUVENCEAUX (53) sur un effectif plus faible que celui que nous avons étudié retenait un taux de bilirubine totale allant jusqu'à 61 mg pour 100 cc - avant tout traitement -.

III) DISCUSSION.

Nous avons utilisé ces valeurs comme documents de référence. Aucune conclusion ne peut être tirée semble-t-il de l'évolution en fonction du temps, puisque tous les sujets ont subi une exsanguino transfusion dès qu'a été reconnu le trouble hémolytique.



Histogramme de répartition du pourcentage de $\frac{BL}{BT}$ sur 69 sérums d'hémolyse aigue par iso-immunisation rhésus -

(en coordonnée verticale, $\log_{10}$ du nombre de cas -)

ICTERES HEMOLYTIQUES

B - ETUDE DU RAPPORT BILIRUBINEMIE LIBRE/BILIRUBINE TOTALE.

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES

L'histogramme ci-contre montre imparfaitement la prépondérance des valeurs très élevées du rapport BL/BT.

La plupart des valeurs obtenues sont en effet égales à 100 %.

Cinquante six fois sur soixante, soit dans 81 % des cas, ce rapport est égal à l'unité. Ce même rapport n'est jamais trouvé inférieur à 50 %.

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

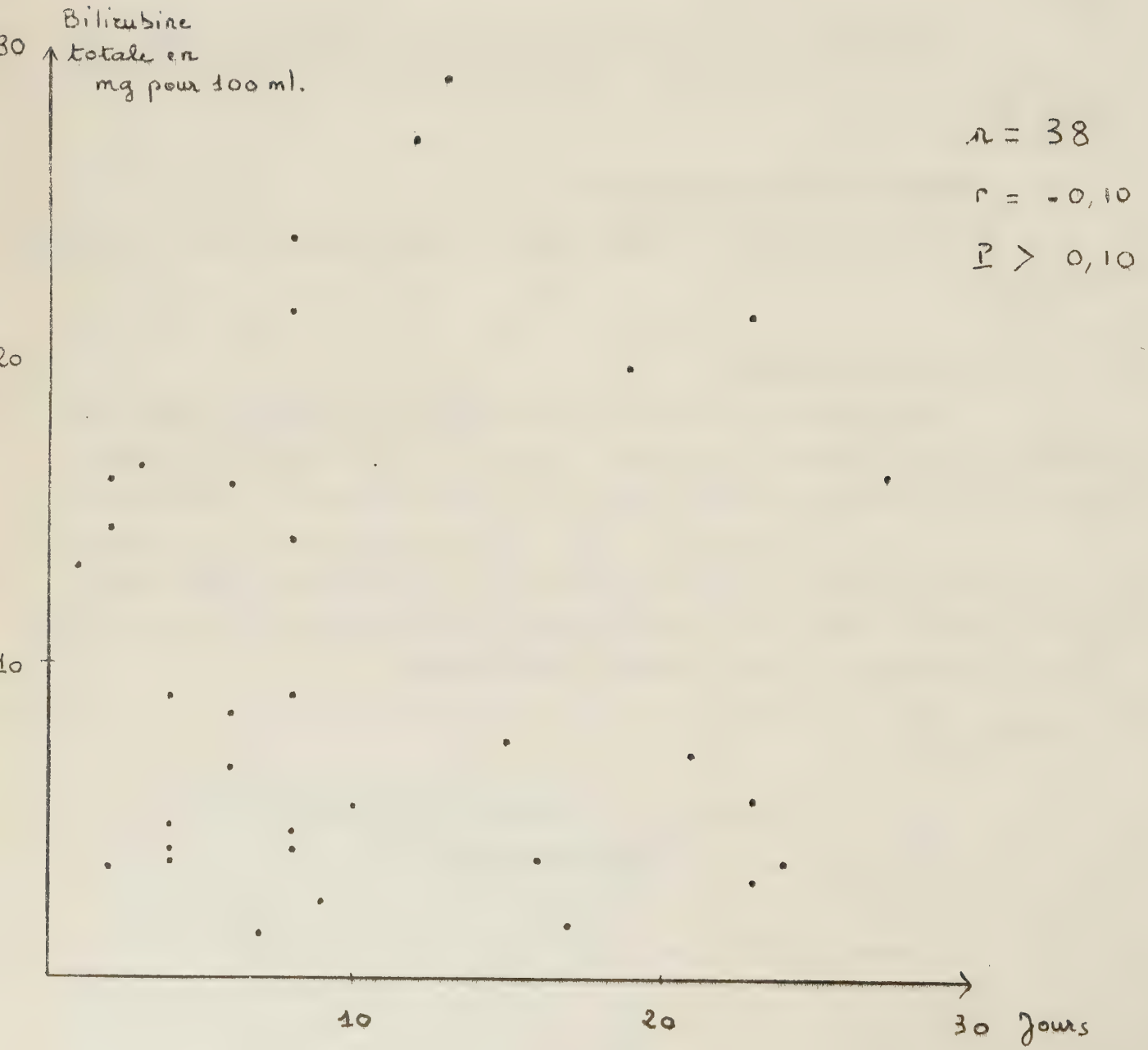
Nous n'avons eu connaissance d'aucun document sur ce sujet particulier.

III) INTERPRETATION.

Les résultats obtenus peuvent être considérés comme conformes aux prévisions théoriques, puisque cette variété d'ictère néo-natal représente un des processus hémolytiques les plus purs.

On peut imaginer que dans les cinquante six cas où BL/BT est supérieur à 90 %, il existait à côté de la maladie hémolytique une conjugaison hépatique défectueuse (par immaturité de cet organe, ou par interférence d'un stéroïde inhibiteur).

Ictères par obstruction extra hépatique



II - ICTERES PAR OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE

A - EVOLUTION DE LA BILIRUBINEMIE TOTALE.

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Trente trois fois sur trente huit cas, soit dans 86 % des cas la bilirubinémie totale a été trouvée entre 1 et 20 mg pour 100ml de plasma.

Il n'existe pas dans notre étude de corrélation significative entre le taux de bilirubinémie totale et le temps écoulé depuis l'apparition de l'ictère. ($r = -0,10$ $P > 0,10$).

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

Selon FAUVERT (19bis) la bilirubinémie totale au cours des ictères rétentionnels extra hépatiques est comprise entre 15 et 20 mg pour 100 ml de plasma, avec une technique différente de la nôtre,et dont les taux normaux sont compris entre 0 et 10 mg par litre.

III) INTERPRETATION.

L'absence d'élévation de la bilirubine totale avec l'évolution, peut être interprétée de deux manières différentes :

1° - La bilirubine totale reste invariable quel que soit le délai écoulé depuis l'apparition de l'ictère, parce qu'il existe une explication physiologique à ce phénomène : la bilirubine conjuguée, en excès dans le sang se déverse dans l'urine dès qu'est atteint un certain seuil rénal. Autrement dit, il existerait une clearence de la bilirubine conjuguée, et ce phénomène rendrait compte du maintien d'un taux assez invariable dans le sang. Cette première explication possède des bases physiologiques. (CACHERA,CAROLI)(19bis).

2° - La fixité de la bilirubine totale constitue un phéno-

mène statistique particulier à la population que nous allons étudier et qui ressortit des hasards de l'échantillonnage ; dans cette nouvelle optique, nous estimons ne pas être autorisé à tirer des conclusions générales.

Cette deuxième hypothèse est évidemment la plus vraisemblable et nous allons tirer parti de cet état de fait.

Ictères par obstruction extra hépatique

$n = 38$

$r = +0,26$

$\underline{P} = 0,10$

$Y = 0,224\,X + 42,5$

II - ICTERES PAR OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE.

B - EVOLUTION DU RAPPORT BILIRUBINEMIE LIBRE / BILIRUBINEMIE TOTALE

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Trente cinq fois sur trente huit cas, soit 90,5 % des cas le rapport BL/BT a été trouvé entre 0,25 et 0,75.

Il existe une corrélation au reste, peu significative, ($r = + 0,26$ $P = 0,10$) entre BL/BT et le temps écoulé depuis la première appartition de l'ictère.

Le calcul de l'équation de la droite de régression est à peine justifié ($y = 0,224 X + 42,5$) Y étant exprimé en pourcentage et X en mg pour 100 ml.

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

FAUVERT et BENHAMOU (38) ont noté au cours des ictères rétentionnels d'origine extra hépatique, une fraction de bilirubine libre chiffrant 10 à 20 % de la bilirubinémie totale.

III) INTERPRETATION.

La présence d'une fraction importante de bilirubine libre au cours des ictères par obstruction parait étonnante, surtout au tout début de l'évolution. Bien plus, cette fraction paraît augmenter avec la durée d'évolution. Deux explications peuvent être avancées :

1° - Il existe comme on le sait une élimination exclusive dans les urines de la fraction conjuguée de la bilirubinémie totale.

2° - On assisterait au cours de l'évolution à un ralentissement de la conjugaison hépatique ; cette dernière anomalie

peut être rapportée au déficit cellulaire fonctionnel qui s'ajoute après un certain intervalle de temps à la stase mécanique d'origine canalaire.

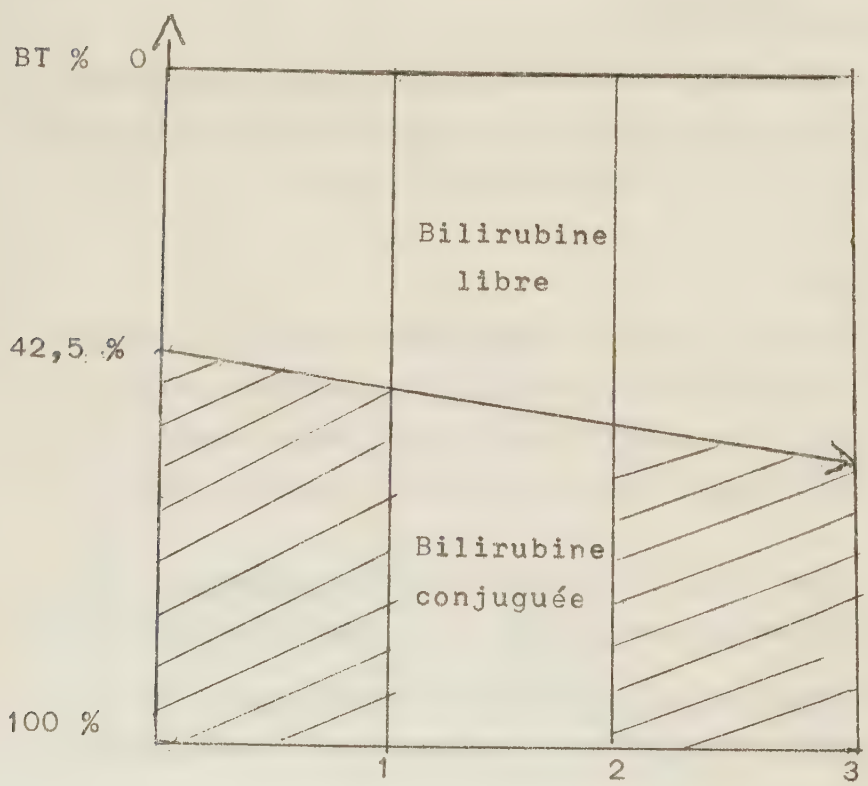
Il paraitrait vraisemblable que les deux mécanismes puissent intervenir concurremment. Un raisonnement simple permet de résoudre les problèmes en suspens.

Puisque dans cette population statistique, dont la bilirubinémie totale ne varie pas, l'augmentation de BL/BT doit obligatoirement s'accompagner d'une baisse de la bilirubine conjuguée. (Un phénomène de clearence rénale de la bilirubine conjuguée, ne doit pas à priori être modifié au cours de l'évolution).

Or une clearence rénale invariable ne pourrait qu'entretenir un taux constant de bilirubine conjuguée. Nous en concluons que, l'on ne peut accorder un rôle prééminent à la clearence de la bilirubine conjuguée. L'explication la plus plausible, reste le déficit de la conjugaison hépatique.

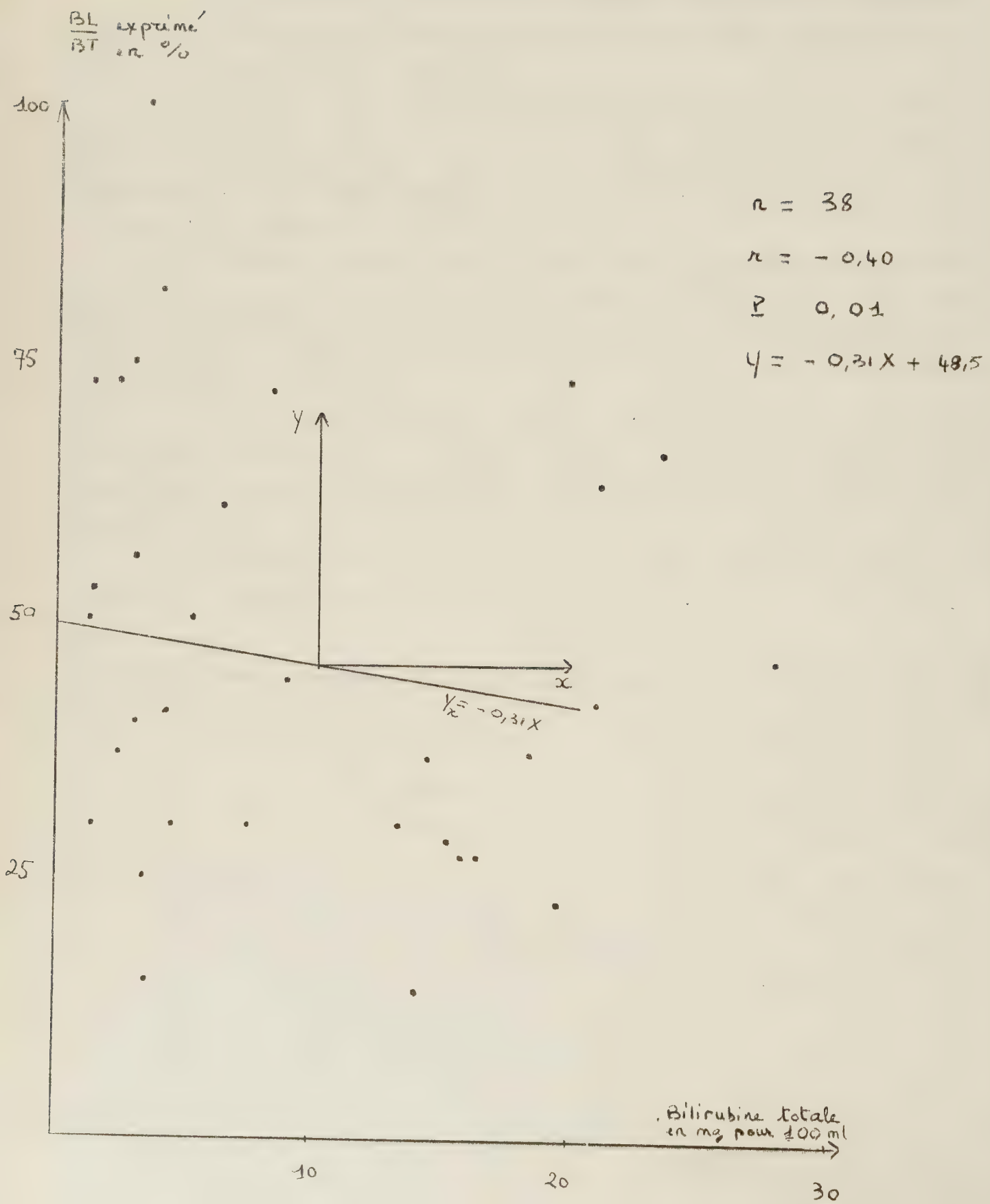
Nous étions cependant surpris de constater une fraction de bilirubine libre aussi importante (surtout en début d'évolution) en tout cas beaucoup plus élevée que celle trouvée par FAUVERT et BENHAMOU.

Le défaut de conjugaison au cours de l'évolution de l'ictère par l'obstruction :



La figure est traversée par la droite de régression obtenue sur le graphique ci-contre. Celle-ci représente le pourcentage de bilirubine libre/ bilirubine totale calculé globalement sur 38 ictères par obstruction extra hépatique.

Ictères par obstruction extra hépatique.



II - ICTERES PAR OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE.

C - INFLUENCE DU TAUX DE LA BILIRUBINE TOTALE SUR LE RAPPORT BL/BT.

Nous nous sommes alors interrogés sur la validité du rapport BL/BT calculé directement à partir des résultats du dosage de la bilirubinémie totale et de la bilirubine conjuguée. Nous nous sommes demandés si la bilirubinémie totale n'influençait pas en elle-même le rapport BL/BT. La recherche de la corrélation entre ces deux variables montre une dépendance statistique ($r = -0,40$ $P = 0,01$). La signification de ce phénomène est la suivante : Plus la bilirubine totale est faible, plus le rapport BL/BT est élevé, nous avons donc suspecté un artefact intervenant à la manière d'une erreur systématique par excès et nous avons résolu de décomposer chacun des paramètres étudiés, en ses constituants élémentaires.

La bilirubine libre (BL) est constituée par une fraction de bilirubine libre (BL) physiologique, celle qui est dosée chez tous les sujets non ictériques (a), et d'une bilirubine libre en excès, c'est-à-dire pathologique (B), d'où la bilirubine libre est égale à $BL = a + B$.

La bilirubine totale (BT) est la somme de la bilirubine physiologique (a) de la bilirubine libre en excès (B) et de la bilirubine conjuguée (C).

$$BT = a + B + C.$$

Résolvons ce système d'équation avec k = rapport des bilirubines pathologiques soit :

$$k = \frac{B}{B+C}$$

Ce coefficient k constitue l'indice réel de la conjugaison hépatique au cours des ictères.

Donc $B = k\,(B + C)$ et pour $K = \frac{1}{k}$ $KB = (B + C)$

Si nous posons $\frac{BL}{BT} = Y$ et $BT = X$

nous pouvons encore écrire :

$$B + C = BT - a = X - a$$

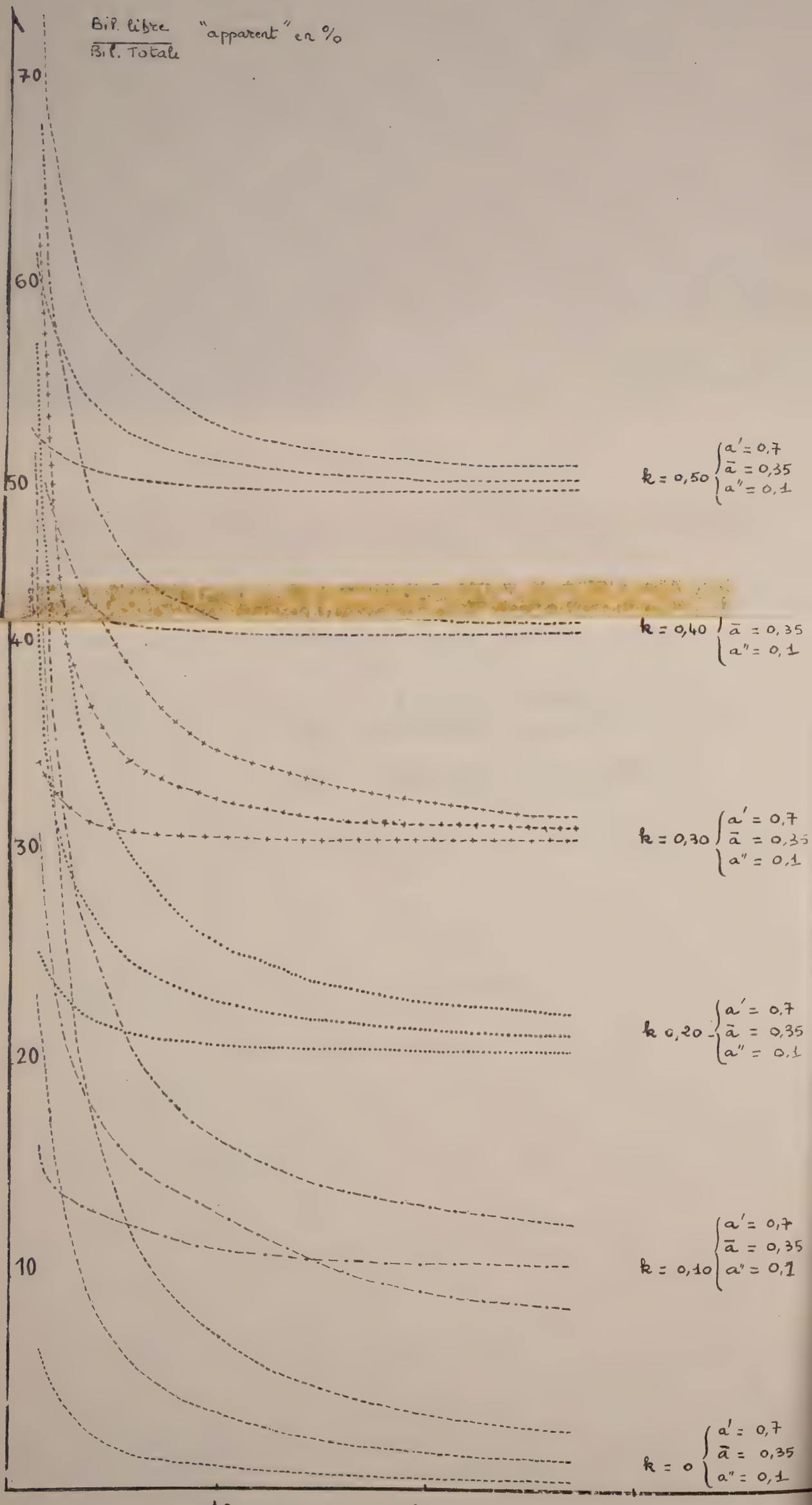
et $KB = B + C \quad KB = X - a$

d'où $B = \frac{X - a}{K} = k\,(X - a)$

donc $BL = a + k\,(X - a)$ et puisque $BT = X$

$$\frac{BL}{BT} = \frac{a + k\,(X - a)}{X}$$ ce qui peut s'écrire :

$$\frac{BL}{BT} = \frac{a + k\,(BT - a)}{BT} = \frac{BL}{BT}$$ corrigé.


Bil. libre / Bil. Totale "apparent" en %
70
60
50
40
30
20
10
k = 0,50 a' = 0,7 ā = 0,35 a'' = 0,1
k = 0,40 ā = 0,35 a'' = 0,1
k = 0,30 a' = 0,7 ā = 0,35 a'' = 0,1
k 0,20 a' = 0,7 ā = 0,35 a'' = 0,1
k = 0,10 a' = 0,7 ā = 0,35 a'' = 0,1
k = 0 a' = 0,7 ā = 0,35 a'' = 0,1
10
20
30
Bilirubine totale

II - ICTERES PAR OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE.

D - APPLICATION GENERALE DU CALCUL DE L'INDICE DE CONJUGAISON.

L'équation à laquelle nous avons abouti, répond à une fonction homographique. C'est ce que l'on peut démontrer aisément en construisant un normogramme susceptible de fournir les valeurs approchées du rapport $\frac{\text{BL pathologique}}{\text{BT pathologique}}$ soit k, en fonction du rapport BL/BT apparent et de la bilirubine totale.

Ce diagramme composé d'une famille d'hyperboles équilatères, a été construit en affectant successivement dans l'équation précédente au facteur "a" les valeurs de 0,35 - 0,1 - et 0,7 mg pour 100 ml, moyenne arithmétique et extrêmes expérimentaux de la distribution de la bilirubinémie du sujet normal (cf. IIème partie).

Il s'agit de reporter sur ce diagramme les valeurs mesurées des bilirubinémies pour obtenir par une lecture directe approchée, l'indice de conjugaison k. Ce diagramme met en évidence un phénomène assez remarquable : l'importance de l'erreur systématique commise pour les valeurs de la bilirubinémie totale inférieure à 10 mg et surtout à 6 mg pour 100 ml.

Ictères par obstruction extra hépatique.

$n = 38$

$r = + 0,34$

$0,02 < P < 0,05$

$a = 0,35$

$y = 1,02\,X + 30,3$

II - ICTERES PAR OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE.

E - APPLICATION DE L'INDICE DE CONJUGAISON AU PROBLEME PARTICULIER DE L'ICTERE PAR OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE.

Nous avons tiré parti des développements précédents en les appliquant aux ictères rétentionnels par obstruction extra hépatique. Pour ce faire, nous avons recherché à nouveau le degré de corrélation entre k (au lieu de BL/BT) et le temps écoulé depuis l'apparition de l'ictère. Cette corrélation est positive et statistiquement significative.

La recherche du caractère significatif de la différence entre le coefficient de corrélation BL/BT (f) t, soit 0,26 et le coefficient de corrélation k (f) t, soit 0,34 montre que cette différence est effectivement significative:

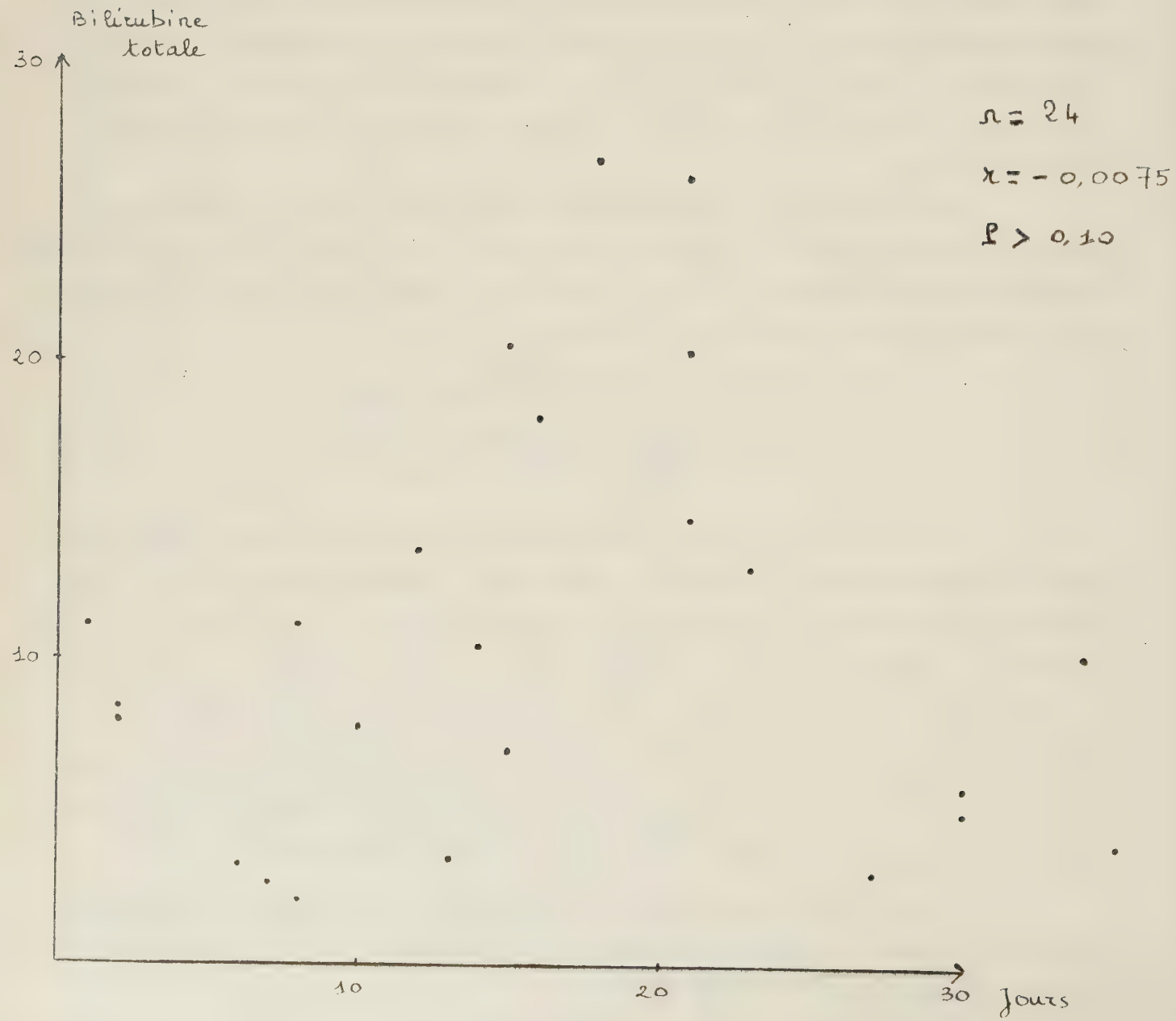
$$\frac{1 - (0,34)^2}{38 - 1} + \frac{1 - (0,26)^2}{38 - 1} = 0,0011$$

$$\frac{0,34 - 0,26}{0,034} = 2,66$$

La traduction de la distinction faite entre les différents types de bilirubine du sérum au cours des ictères par rétention nous a permis de préciser nos premières constatations : plus le délai écoulé depuis l'apparition de l'ictère est important, plus la fraction de bilirubine libre s'élève, moins efficace est la conjugaison. Ce phénomène qui était peu apparent avec l'étude de BL/BT (f) t, devient nettement significatif avec k (f) t,. Ainsi pouvons nous affirmer la réalité d'une inhibition de la conjugaison hépatique au cours de l'évolution de l'ictère rétentionnel extra hépatique.

Notons au passage que k est trouvé fréquemment supérieur à 50 % mais que le nombre de valeurs inférieur à 25 % devient nettement plus important qu'avec BL/BT.

Ictères Infectieux



III - ICTERES INFECTIEUX.

A - EVOLUTION DE LA BILIRUBINEMIE TOTALE.

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Vingt fois sur vingt quatre, c'est-à-dire dans 83 % des cas la bilirubinémie totale est trouvée entre 2 et 20 mg pour 100 ml de plasma. Il n'existe pas de corrélation entre le taux de bilirubinémie totale et la durée de l'évolution de l'ictère.

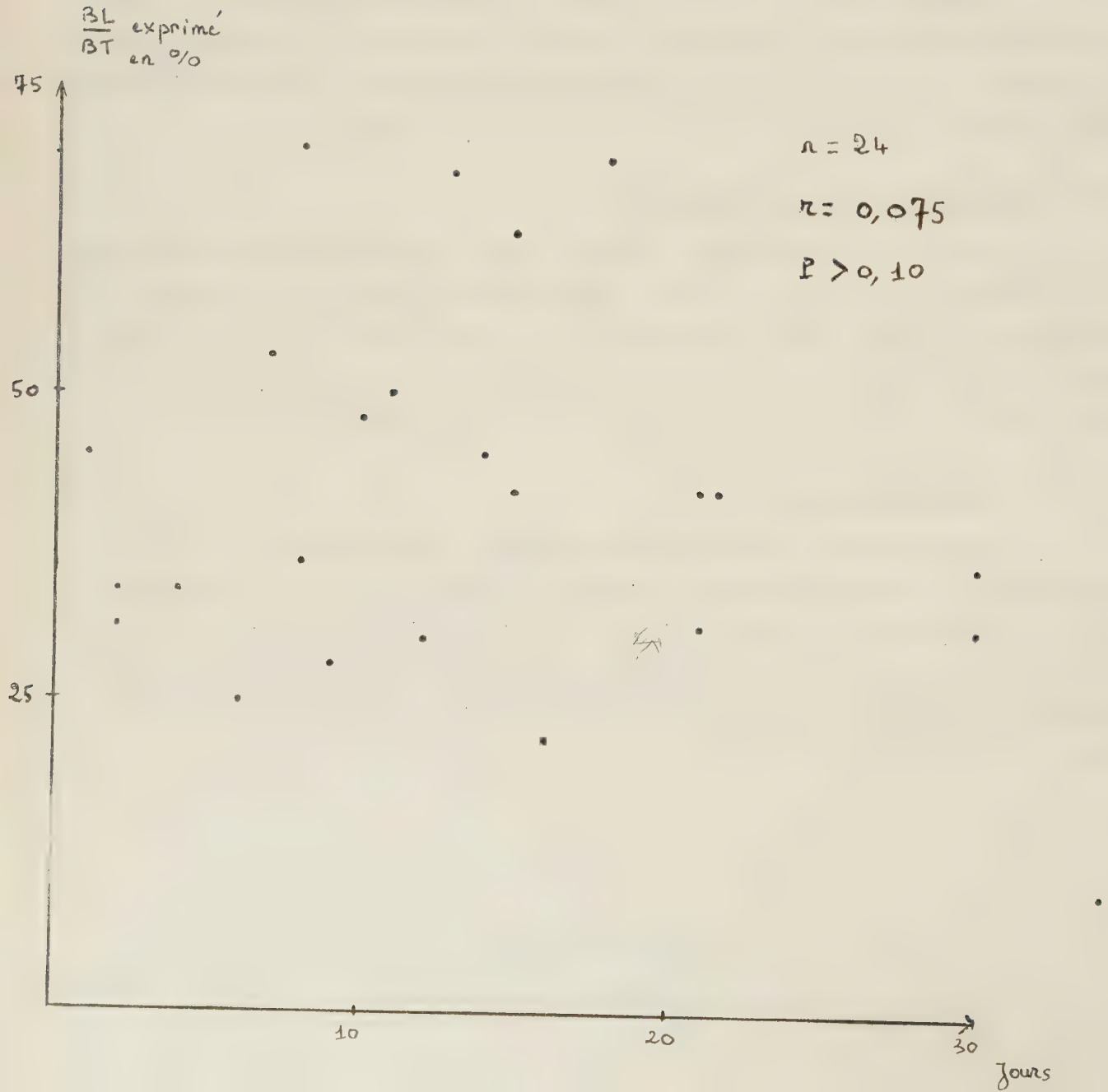
II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

FAUVERT et BENHAMOU (19bis) avec une technique différente de la nôtre et dont les valeurs normales sont de 0 à 10 mg pour 100ml de plasma dans une statistique de 70 cas trouvent une baisse progressive de la bilirubine totale 11,5 mg pour 100 ml à la première semaine, 6 mg à la troisième semaine, et 1 mg à la septième semaine.

III) INTERPRETATION.

Les hasards de l'échantillonnage statistique ont voulu qu'à partir d'une population cependant homogène, nous n'assistions pas à la diminution progressive de la bilirubinémie totale. Autrement dit, nos données expérimentales ne sont pas représentatives du phénomène clinique de disparition de l'ictère dans le délai habituel de la troisième semaine.

Ictères Infectieux



III - ICTERES INFECTIEUX.

B - EVOLUTION DU RAPPORT BILIRUBINE LIBRE / BILIRUBINE TOTALE

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Dans vingt deux cas sur vingt quatre, soit 91 % des cas le rapport BL/BT est compris entre 25 et 75 % et plus précisément, dans 19 cas sur 24 au-dessous de 50 %.

Il n'existe pas de corrélation entre le rapport BL/BT et le temps écoulé depuis la première apparition de l'ictère. ($r=0,075$, $P > 0,10$) le calcul d'une droite de régression n'est donc pas justifié.

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

FAUVERT et BENHAMOU (19bis) disent avoir noté une augmentation de la bilirubine conjuguée.

La bilirubine libre représente environ 20 % de la bilirubine totale lors de la première semaine. Au cours de l'évolution de l'ictère, ces auteurs notent une diminution du rapport qui passe à 17 % (1ère semaine) à 7 % à la 3ème semaine.

III) INTERPRETATION.

Nous n'expliquons pas l'absence de baisse du rapport BL/BT au cours de l'évolution des cas d'hépatite que nous avons étudiés. Cette anomalie ne peut être imputée ni aux variations éventuelles de la bilirubine totale (puisque celle-ci ne varie statistiquement pas avec le temps) ni à une dépendance de BL/BT vis-à-vis de BT. ($r = 0,0011$). Pour cette dernière raison, il n'est pas justifié de calculer comme pour les ictères par obstruction extra hépatique

un rapport corrigé BL/BT, tenant compte de la bilirubinémie physiologique.

Il faut se contenter de souligner que la majorité des ictères par hépatite possède une fraction de bilirubine libre inférieure à 50 %, ce qui pourrait témoigner de la prédominance des phénomènes d'obstruction biliaire intra hépatique, par rapport au défaut de conjugaison.

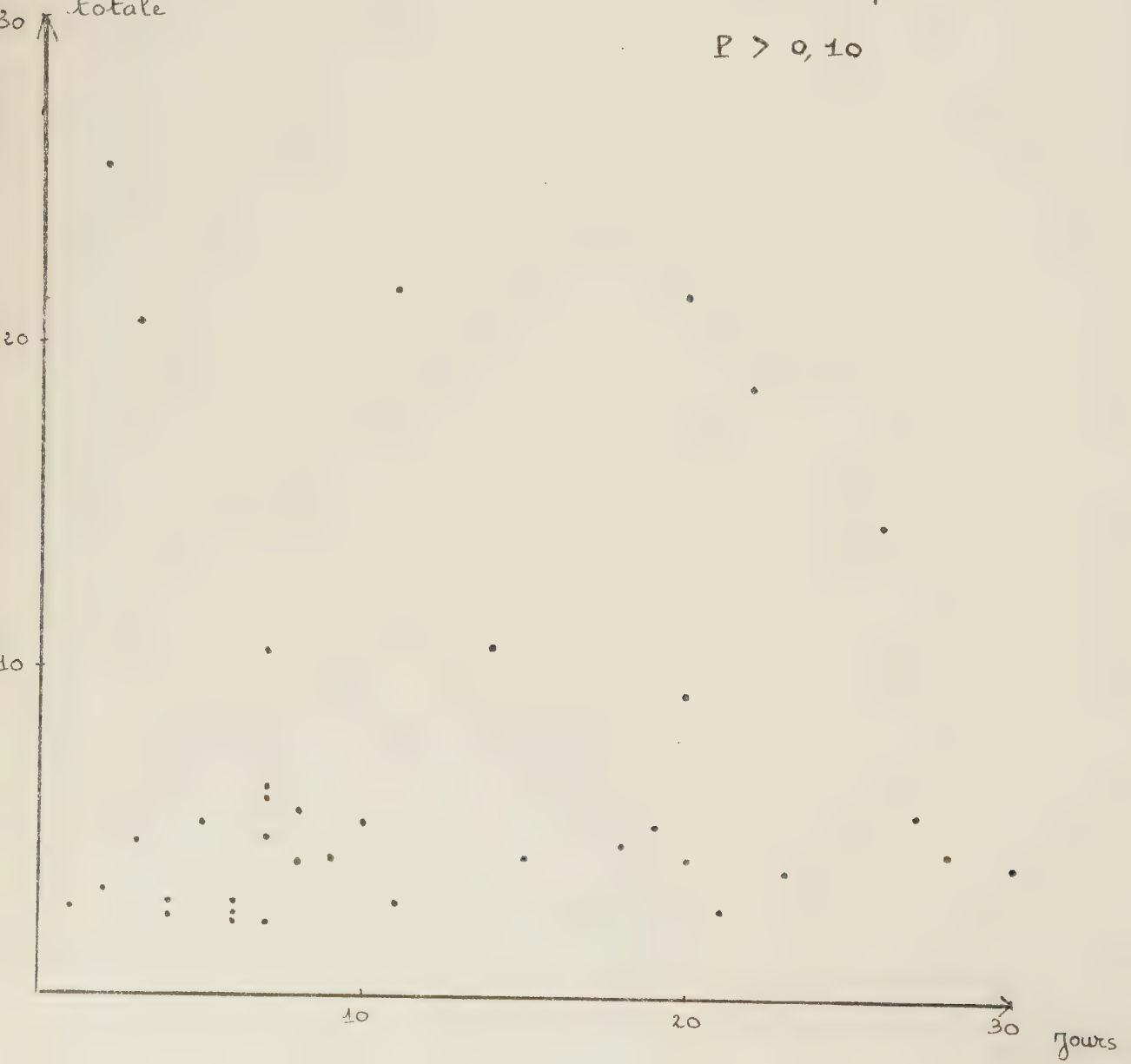
D'un point de vue beaucoup plus pratique, il faut noter qu'on ne saurait porter le diagnostic d'ictère infectieux sur la valeur apparente du rapport BL/BT.

Ictères des cirrhoses

$n = 39$

$r = -0,007$

$P > 0,10$



IV - ICTERES DES CIRRHOSES.

A - EVOLUTION DE LA BILIRUBINEMIE TOTALE EN FONCTION DU TEMPS.

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Il n'y a aucune corrélation entre la bilirubine totale et la durée d'évolution. ($r = -0,007$ et $P > 0,10$).

Les valeurs rencontrées sont identiques à celles déjà notées dans les rétentions biliaires et dans les hépatites. Cependant trois fois sur quatre, le taux est inférieur à 10 mg pour 100 ml.

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

LEBON et CLAUDE ont noté au cours des ictères chez les cirrhotiques une bilirubinémie totale comprise entre 20 et 60 mg avec la méthode de CHABROL (dont les taux normaux sont de : 16 à 32 mg %) et comprise entre 3 à 10 mg avec la méthode d'HIJMANS Van DEN BERG dont les taux normaux sont inférieurs à 8 mg °/°° (56bis).

III) INTERPRETATION.

La bilirubinémie totale s'inscrit comme une valeur qui n'est pas statistiquement influencée par la durée d'évolution. Cette constatation ne peut en aucun cas être interprétée comme un argument en faveur d'une obstruction.

Ictères -des Cirrhoses-

n = 39

r = 0,005

P > 0,10

IV - ICTERES DES CIRRHOSES.

B - EVOLUTION DU RAPPORT BILIRUBINE LIBRE / BILIRUBINE TOTALE

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Il existe une très grande dispersion des résultats qui sont compris entre 15 et 100 %.

Les valeurs se répartissent également de part et d'autre de 50 %. La corrélation statistique est totalement inexistante entre BL/BT et la durée d'évolution.

Ces constatations suggèrent l'hétérogénéité de la population étudiée.

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

Pour FAUVERT et BENHAMOU, le pourcentage de BL/BT est " souvent compris entre 20 et 30 % ". Ces auteurs n'apportent aucun document relatif à l'évolution en fonction du temps. (38)

III) INTERPRETATION.

Les valeurs BL/BT comprises entre 25 et 75 % sont compatibles comme on l'a vu avec l'hypothèse d'hépatite de rencontre ou d'ictère par obstruction intra ou extra hépatique ; il faut cependant interpréter ces données avec prudence en raison des perturbations hémodynamiques rencontrées au cours des cirrhoses alcooliques. Il faut en effet faire intervenir dans l'interprétation du rapport BL/BT trois anomalies de base :

- l'artefact dû à la présence d'une bilirubinémie physiologique. Nous n'avons pas crû devoir rechercher la corrélation k (f) t, dans ce groupe, en raison du caractère hétérogène de la population.

- la réduction de la capacité de conjugaison en rapport avec l'insuffisance cellulaire hépatique.

- le défaut d'irrigation du foie : on sait que le débit hépatique efficace, débit de perfusion des sinusoïdes est réduit d'au moins un tiers et souvent davantage au cours de la cirrhose éthylique.

On conçoit dans ces conditions, qu'à fonction cellulaire égale (ce qui n'est évidemment pas le cas) une quantité plus faible de bilirubine puisse être conjuguée par unité de temps chez le cirrhotique que chez le sujet normal.

Ces deux dernières anomalies sont certainement suffisantes à expliquer le subictère permanent du cirrhotique alcoolique.

L'existence d'un shunt vasculaire périhépatique ne suffit pas à expliquer la présence de bilirubine libre. On a pu contater la survenue après anastomose portocave d'une hyperhémolyse par splenectomie secondaire (30bis).

Ainsi en dehors de toutes complïcations ictériques, le déficit cellulaire hépatique et la réduction du débit de perfusion s'associent pour diminuer la capacité de conjugaison : ainsi s'explique la réduction de la clearence de la bilirubine chez le cirrhotique (59). Il existe par ailleurs un contingent important (14 cas sur 39) de valeurs supérieures à 75 %, dans la zone des syndromes hémolytiques.

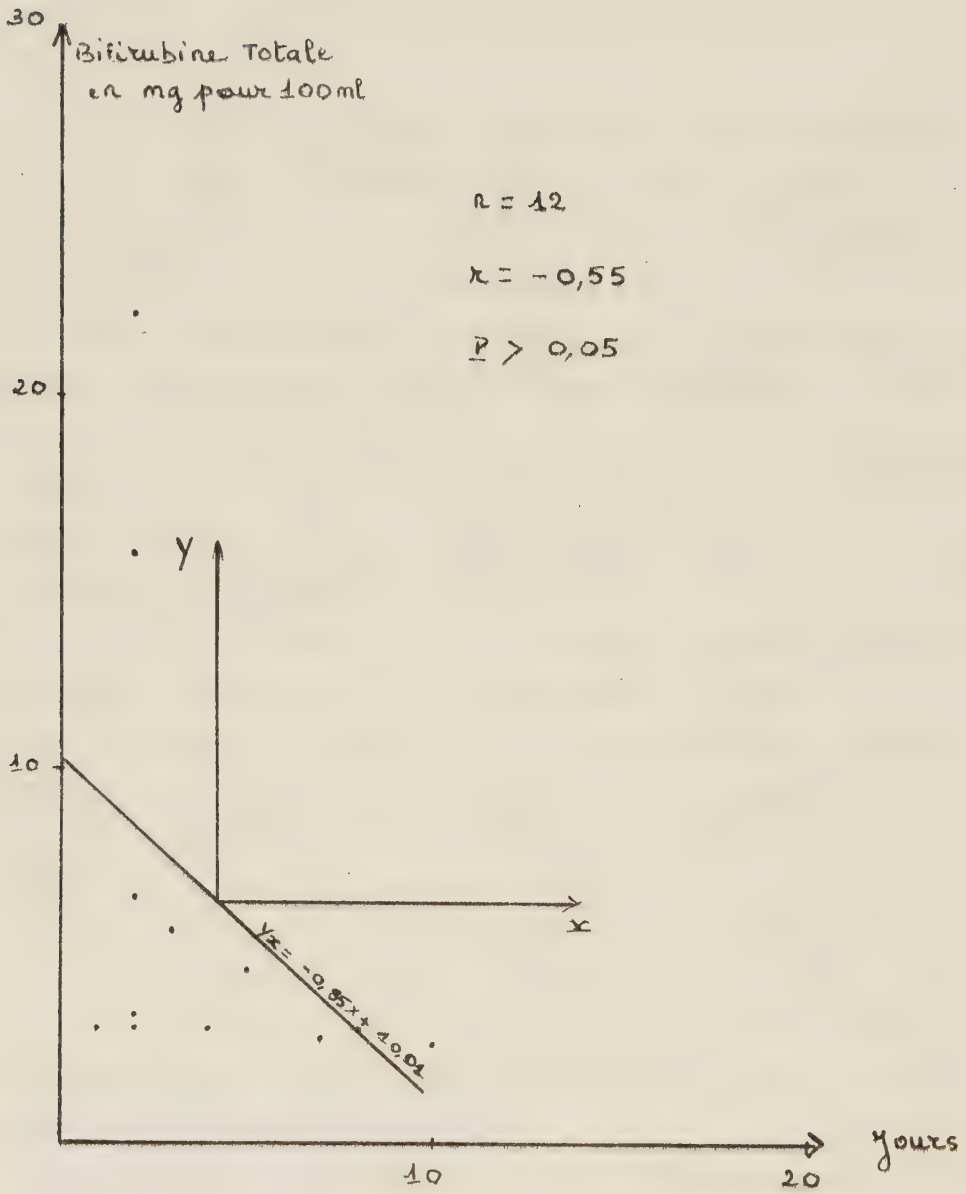
En conclusion, les anomalies du métabolisme des bilirubines chez le cirrhotique paraissent en rapport avec trois facteurs:

- un défaut physiopathologique inhérent à la cirrhose, réduction du débit hépatique offrant à la bilirubine pré-hépatique moins d'opportunité à être conjuguée.

- une hémolyse probablement plus fréquente qu'il n'est classique de le dire et qui reste en partie mystérieuse, le rôle de l'hyperplénisme n'étant pas exclusif.

- des ictères soient hépatiques soient obstructifs et liés à l'envahissement par la sclérose, et dans ce dernier type de mécanisme en cause, l'étude des bilirubines n'apporte pas de lumière.

Ictères Post abortum



$r = 12$

$r = -0,55$

$P > 0,05$

V - ICTERES DES HEPATONEPHRITES POST ABORTUM.

A - EVOLUTION DE LA BILIRUBINEMIE TOTALE.

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Il existe une corrélation significative entre BT et la durée d'évolution. ($r = -0,55$) $0,02 < P < 0,05$.

L'équation de la droite de régression est la suivante :

$$Y = -0,85\ X + 10,2$$

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

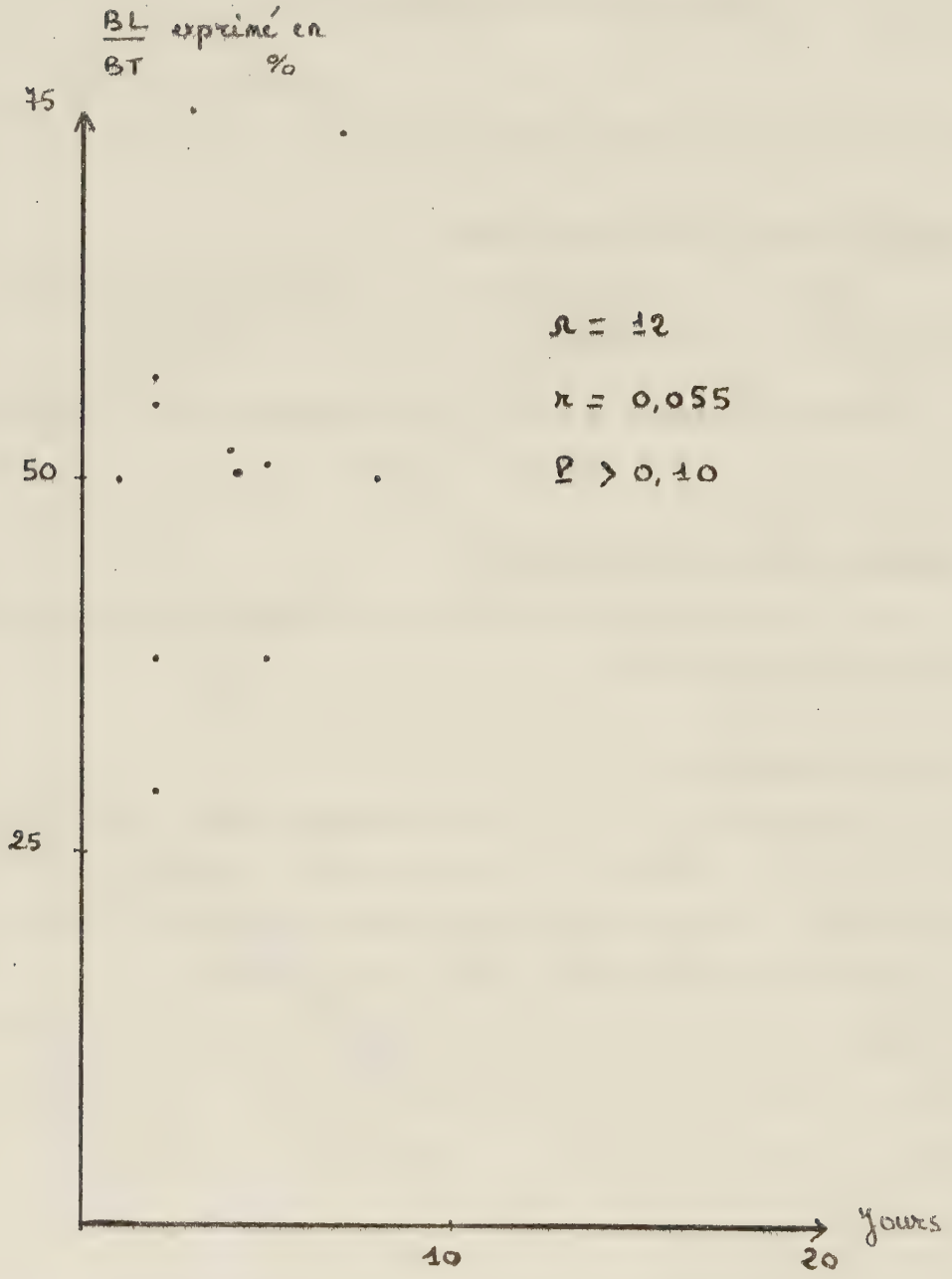
Nous n'avons pu relever aucun document identique sur ce sujet dans la littérature.

III) INTERPRETATION.

La diminution de la bilirubinémie totale au cours des 10 premiers jours est conforme à l'expérience clinique. Nous aurions très probablement obtenu une corrélation plus significative si le groupe de sujets étudiés avait été plus important.

Notons que la bilirubinémie totale est très généralement peu élevée au cours de ces ictères (entre 2 et 7 mg dans 10 cas sur 12).

Ictères Post abortum -



V - ICTERES DES HEPATONEPHRITES POST ABORTUM.

B - EVOLUTION DU RAPPORT BILIRUBINE LIBRE / BILIRUBINE TOTALE

I) CONSTATATIONS EXPERIMENTALES.

Nous n'avons pas noté de corrélation entre le rapport BL/BT et la durée d'évolution de l'ictère ($r = 0,055$ $P > 0,10$). Par ailleurs les valeurs de ce rapport sont très dispersées, mais comprises entre 25 et 75 %.

II) DONNEES DE LA LITTERATURE.

Nous n'avons connaissance d'aucun document analogue.

III) INTERPRETATION.

Ce diagramme permet d'objectiver un fait qui mérite d'être retenu, le rapport BL/BT ne correspond en rien à ce que nous avons trouvé au cours des syndromes hémolytiques néo-nataux. Le passage de BL/BT apparent à BL/BT corrigé ou k ne modifie en rien les données obtenues. Nous sommes ainsi amenés à admettre qu'il existe au cours des ictères post abortum deux anomalies métaboliques.

1° - une hémolyse (comme l'attestent l'anémie aiguë et les bilans hémolytiques) responsable d'une hyperproduction de bilirubine libre.

2° - une hépatite obstructive sans atteinte notable de la conjugaison puisqu'une très importante fraction de la bilirubine libre est sous forme conjuguée. Tout se passe comme si la régurgitation prédominait largement sur une atteinte cellulaire.

S Y N T H E S E

1° - Au terme de ces études quantitatives, nous revoyons assemblés les résultats acquis, et soulignés, les points sur lesquels notre effort a particulièrement porté.

. Nous nous sommes assurés de la validité de notre méthode en la mettant à l'épreuve des ictères hémolytiques du nouveau-né par iso-immunisation : la très nette prédominance de bilirubine libre montre que la méthode sépare effectivement la bilirubine libre et la bilirubine conjuguée.

. L'analyse de l'évolution du rapport BL/BT nous a fait prendre conscience de l'erreur engendrée par l'existence d'une bilirubinémie physiologique. Comme cette erreur est d'autant plus importante que la bilirubine totale est moins élevée nous avons dû faire appel à un rapport déduit par le calcul : bilirubine libre pathologique/ bilirubine totale pathologique. Un diagramme est établi fournissant une valeur approximative de cet indice de conjugaison au cours des ictères en fonction du taux de bilirubine totale et du rapport BL/BT mesuré expérimentalement.

. Au cours des ictères rétentionnels par obstruction extra hépatique l'indice de conjugaison s'élève progressivement avec la durée d'évolution ; ce phénomène statistiquement significatif peut être considéré comme le témoin d'une défaillance progressive de la glycuro-conjugaison au cours de ces ictères. A notre connaissance ce phénomène physiopathologique n'avait jamais été démontré par une méthode analogue.

. Le groupe des ictères infectieux que nous avons analysé ne s'est pas prété à un raisonnement théorique et à des déductions physiopathologiques.

. Le groupe des cirrhoses est apparu très hétérogène ; il

ne diffère pour nous des obstructions à l'étage hépatique ou post hépatique que par la fréquence d'une bilirubinémie libre voisine de 100 % ou égale à 100 %. Cette constatation nous permet de souligner la relative fréquence et l'importance de l'hémolyse au cours des ictères cirrhotiques.

. Nous avons enfin pu constater que les ictères post abortum se comportaient plus comme des ictères obstructifs que comme des ictères hémolytiques.

2° - Quel est l'apport de ces données au diagnostic clinique ?

Dans ce domaine nos constatations sont essentiellement négatives et nous pensons que ce caractère négatif mérite d'être souligné.

Si le rapport BL/BT supérieur à 80 % est fortement évocateur d'hémolyse, une valeur de ce rapport entre 25 et 75 % ne préjuge d'aucune autre étiologie : obstructive, mécanique, ou hépatique, encore convient-il de n'utiliser comme indice de conjugaison que le rapport déduit par le calcul soit BL pathologique/BT pathologique. Ainsi le dosage différentiel des bilirubines du sérum n'apporte pas les précisions diagnostiques que l'on pouvait espérer.

Il est possible que des renseignements d'une meilleure qualité puissent être tirés dans quelques années de l'appréciation quantitative des mono et diglycuro-conjugués.

En somme, les cas d'hémolyse exceptés, on ne peut accorder selon nous aucune valeur sémiologique au dosage séparé des bilirubines libre et conjuguée.

3° - A partir de ce travail certaines perspectives nous paraissent offertes. Il conviendrait sans doute d'étudier de la même façon un groupe numériquement important, d'hépatites dans lequel les taux de bilirubine totale décroissent en fonction du temps, c'est-à-dire soit représentatif du phénomène d'extinction de l'ictère observé en clinique.

Nous aurions également aimé pouvoir étudier de la même

façon les hépatites toxiques et les syndromes hémolytiques de l'adulte.

Une étude parallèle est à entreprendre visant comme nous l'avons déjà souligné l'évolution chez le même sujet de jour en jour de la bilirubine totale et de l'indice de conjugaison.

Enfin pour rejoindre les préoccupations actuelles de la biologie quantitative, il nous paraîtrait opportun d'étudier la cinétique de la clearence de la bilirubine libre au décours de certains ictères et en particulier pendant la convalescence de cet ictère si particulier des hépato-néphrites post abortum.

C O N C L U S I O N S

. Après avoir analysé les données récentes concernant le métabolisme normal et pathologique des pigments biliaires, nous avons recherché la signification physiopathologique et la valeur sémiologique du dosage des bilirubines au cours des ictères. Nous avons en particulier déterminé l'évolution du rapport bilirubine libre/bilirubine totale en regard du temps écoulé depuis l'apparition de l'ictère.

. L'étude des obstructions extra hépatiques nous a permis d'objectiver l'inhibition progressive de la conjugaison hépatique au cours de l'évolution. A cette occasion nous avons pu montrer l'erreur dûe à la non-distinction des bilirubines libre, physiologique et pathologique aux faibles concentrations de bilirubine totale ; " l'indice de conjugaison " ou rapport bilirubine libre en excès/bilirubine totale pathologique nous a paru un témoin plus fidèle de la clearence hépatique de la bilirubine que le rapport bilirubine libre/bilirubine totale. Au cours des cirrhoses éthyliques la composition biliaire du sérum est le plus souvent celle d'un ictère obstructif ; mais l'hémolyse nous est apparue comme également fréquente, analogue à celle que nous avons observée au cours des ictères néo-nataux par iso-immunisation. Enfin dans la limite des cas étudiés par nous, les

ictères des hépatonéphrites post abortum se présentent plus comme des hépatites que comme des hémolyses aiguës.

. L'apport clinique du dosage séparé des bilirubines dans le sérum nous semble négligeable tout au moins dans sa forme actuelle. Au cours des ictères non hémolytiques, la fraction de bilirubine libre est le plus souvent trouvée entre 25 et 75 % de la bilirubine totale ; ce taux est largement indépendant de l'ancienneté de l'ictère, il ne préjuge d'aucune étiologie.

Le Président de la Thèse :
Pr. M. LEVRAT

VU et permis d'imprimer
Lyon, le 4 Novembre 1963.

VU, le Doyen :
J.F. CIER.

Le Recteur, Président du
Conseil de l'Université :
P. LOUIS.

- Addendum -

T E C H N I Q U E

REACTIFS :

NITRITE DE SODIUM : mettre 1 g dans 100 ml d'eau distillée. la diluer au moment de l'emploi pour obtenir une solution à 0,5 %.

SOLUTION A : placer 1 g d'acide sulfanilique dans un peu d'eau contenant 15 ml de H CL concentré. Amener à litre avec de l'eau distillée.

DIAZO REACTIF : mélanger avant l'emploi : 0,06 de nitrite de sodium 0,5 % 2 ml de solution A.

B.S.U. : dissoudre 75 g de benzoate de sodium dans 180 ml environ d'eau distillée. Ajouter 45 g d'urée. Dissoudre par agitation. Amener à 300 ml par l'eau distillée.Filtrer.

TECHNIQUE -

1° MICRO METHODE : utilisée pour titrer des bilirubinémies jusqu'à 30 mg pour 100 ml. (au-dessus diluer au 1/2 le sérum au départ).

	CUVE BLANK	CUVE REACTION
Sérum à titrer	0,1 ml	0,1 ml
Solution A	0,2	---
Diazo réactif	---	0,2
Eau saline	0,7	0,7
B.S.U.	1	1

Photométrer à 550 mμ: faire le zéro de l'appareil sur la cuve blank avant de mesurer l'absorption de la cuve réaction. Lire le résultat sur la courbe d'étalonnage (cf. ci-dessous).

Dans le cas de la présence de bilirubine conjuguée une teinte rose apparaît dans la cuve réaction avant l'addition de B.S.U. pour doser cette bilirubine, mettre dans les deux cuves 1 ml d'eau

distillée à la place d'1 ml de B.S.U. et photométrer une minute après l'addition de diazo réactif dans la cuve réaction.

2° - MACRO METHODE : utilisée pour titrer des bilirubinémies jusqu'à 3,5 mg pour 100 ml. (au-delà diluer à 1/2, 1/4 ...)

Mettre 0,8 ml de sérum dans chaque cuve à la place de 0,1ml de sérum et de 0,7 d'eau saline comme indiqué dans la micro méthode. Sur la courbe d'étalonnage, le résultat sera divisé par 8.

ETALONNAGE.

1°) dans 21 ml de sérum humain, faire tomber goutte à goutte, 2 ml de ClH 0,I N puis 2 ml de NaOH 0,I N.

Vérifier l'absence de modification notable du pH au papier indicateur. On obtient alors de sérum témoin.

2°) Dans un pèse filtre, peser en présence d'un déshydratant, 50 mg de bilirubine HOFFMANN LAROCHE. Ajouter 10 ml de Na OH 0,I N. Agiter longuement pour une dissolution et une homogénéisation parfaite.

3°) A 21 ml de sérum ajouter successivement 2 ml de ClH 0,I N puis 2 ml de solution sodique de bilirubine précédente. On obtient ainsi le sérum étalon à 40 mg de bilirubine pour 100 ml.

4°) Préparer une série de dilutions en mélangeant :

Taux mg pour 100 ml.	0	4	8	16	20	24	28	40
Sérum témoin au ml.	seul	4,5	2	1,5	1	1	1,5	
Sérum étalon au ml.		0,5	0,5	1	1	1,5	3,5	seul

5°) Appliquer à chaque dilution la technique du dosage. Retrancher le premier des chiffres obtenus des suivants pour que la courbe passe par le zéro. Ne pas utiliser le dernier chiffre (Loi de BEER).

B I B L I O G R A P H I E

1 - ARIAS I.M. Recent advances in metabolism of bilirubin and their implications. MED. CLIN. NORTH AMERICA ; May 1960, 44, p. 607-621.

2 - ARIAS I.M. and WOLFSON S. Inhibition of bilirubin conjugation in vitro by serum from Infants with Transient Familial Hyperbilirubinemia and serum from their mothers. GASTROENTEROLOGY (abstract) May 1960, 38 p. 797-798.

3 - ARIAS I.M. CONGRES INTERNATIONAL de G.E. LEYDEN 1960 : Ictère acholurique non hémolytique (maladie de GILBERT).

4 - ARIAS I.M., JONHSON L. and WOLFSON S: Biliary excretion of injected conjugated and in conjugated bilirubin by normal and Gunn rats. AM. J. PHYSIOL. 1961, 200, p. 1091-1094.

5 - ARIAS I.M. A défect in microsomal function in non hemolytic acholemic jaundice ; J. HISTOCHEM. and CYTOCHEM. 1961, 7-4, p. 250-252.

6 - BAMATTER F.,JEANDET J., HAMPAL A. : L'ictère physiologique néonatal. REV.IANT. HEPAT.1960, 10, 3-34.

7 - BAUMGARTEL T., Physiology und Pathologie des Bilirubines STOFFWECHSELSALS Greendlage der Ikterungforshung 1950. Georg Thieme Ed. Stuttgart.

8 - BARAC G. ARCH. INTERN. PHYSIOL. 1953, 61, 129.

9 - BENNHOLD H. ER GEN D. : INN. MED. U. KINDERHEILKUNDE 1952, 42, 273.

10 - BILLING B.H., COLE P.B. and LATHE G.H. : Increased plasma bilirubin in newborn infants in relation to birth weight. BRIT. MED. J. 1954, 2, p. 1263-1265.

11 - BILLING B.H. Bilirubin metabolism.Clinical.Chemistry 1957, 3, 394.

12 - BILLING B.H. and LATHE : J. AM. MED. 1958, III Bilirubin metabolism in jaundice.

13 - BILLING B.H. The role of conjugation in the excretion of bilirubin. ELSEVIER MONOGRAPHS 1961, p. 50. Bibliog.

14 - BLACKLIDGE VIRGINIA Y. MD. : APPLICATION OF EBERLEIN'S SIMPLE METHOD OF MEASURING THE THREE MAIN FRACTIONS OF BILIRUBIN. J.A.M.A. june 2, 180, 1962, p. 762.

15 - BOGIN:JOURNAL OF PEDIATRICS 1958, 58, p. 529-637.

16 - BOURILLON Roland : Transport de la bilirubine dans le plasma. Annales de Biologie Clinique 1958, 16, p. 3-12. Bibliog.

17 - BRANDT K.H. Excretion des urobilinogènes par la bile, l'urine, et les fèces chez des sujets bien portants et les patients atteints d'affection du foie et des voies biliaires. CONGRES INTERNATIONAL DE LEYDEN. Avril 1960.

18 - BROWN A.K. et ZUELZER W.W. : Studies on the neonatal development of glycuronide conjugating system. J. CLIN. INVEST. 1958, 37, 332-340.

19 - BUT R., HUG; PANEL : BILIRUBIN METABOLISM. GASTRENTEROLOGY 1959, 36, p. 161-179.

19bis CACHERA R., CAROLI Y., FAUVERT R. : Les maladies du foie, des voies biliaires, du pancréas. Ed. Flammarion.

20 - CARBONE et GRODSKY : PROC. SOC. EXPERI. BIOL. MED. 1957, 94, 3, p. 461-463.

21 - CAROLI et PARAF A. : ICTERE CHRONIQUE CONSTITUTIONNEL NON HEMOLYTIQUE. A BILIRUBINE INDIRECTE. Sem. Hop. Paris 1948, 24, p. 532-535.

22 - CHAPTAL J., JEAN R.M. et Mme DOSSA D. : ICTERES PAR HEPATITE INFECTIEUSE DU N.N. ET DU NOURRISSON. Rev. Intern. Hépatol. 1960, 10, p. 109.

23 - CHARBONNIER A., FARON G. : BILIRUBINE INDIRECTE ET BILIRUBINE DIR. Revue Intern. Hépatol. 1955, 5, p. 313-408.

24 - CHARBONNIER A. : ETUDE CRITIQUE DU DOSAGE DE LA BILIRUBINE SERIQUE. Ann. Biol. Cli. 1958, 16-15-16, p. 1-16.

25 - CHARBONNIER A., BONNEVILLE B., BRISBOIS P., CAROLI J. : Ictère mixte idiopathique à poussées successives. Sem. Hop. Paris 1960, 36, 1781-1790.

26 - CHARBONNIER A. : Données actuelles sur les pigments biliaires au cours des ictères. Pathol. et Biol. 1962, 10, 11-12, p. 1055-1082. Bibliog.

27 - CLAIREAUX A., GERRARD J., MARSLAND E.A. : LES ICTERES NEONATAUX. Rev. Intern. Hépat. 1955, 5, 1153-1204.

28 - COOLIDGE J.B., BIOL J. : CHEM. 1940, 132, 119.

29 - COLE P.G., LATHE G.H., BILLING B.H. : SEPARATION OF THE BILE PIGMENTS OF SERUM, BILE AND URINE. Biol. Chem. J. 1954, 57, 514.

30 - CRIGLER J.F. et NAJJAR V.A. : Congenital Familial non Hemolytic Jaundice with Kernicterus. Pédiatrics 1952, 10, 169-174.

30bis DA SILVA L.C., JAMRA M.A., MASPESV, PONTES J.F., PIERONI R.R. and ULHOA CENTRA AB. Pathogenesis of indirect réacting hyperbilirubinemia after porto caval anastomosis - Gastroenterology. 1963,44,117-124.

31 - DAVID G., BOREAU T., INGRAND F. et MAIGRET P. : L'ictère de la maladie hémolytique du N.N. Rev. Intern. Hépat. 1960, 10, 57-107.

32 - DEENSTRA M.D. On Serum Bilirubin during the course of an icterus. Acta Medica Scandinavia. Vol. CXXXII. Fasc. III.

33 - DUBIN I.N. Chronic Idiopathic Jaundice. A review of fifty cases. Am. J. Med. 1958, 24, 268-292.

34 - DUESBERG R. Arch. Exp. Pathol. Pharm. 1934, 174, 305-327.

34bis DUMONT, DOUBILET, WITTE et MULHOLLAND : Ann. of Surgery 1961, 153, n°5, 774-780.

35 - DUTTON G.H. Biochem. J. 1956, 64, 693.

36 - FAUVERT R., BENHAMOU J.P. : Etude statistique et dynamique de la bilirubine indirecte du sérum. Annales de Biol. Clin. 1958, 16, 314, 127-140.

37 - FAUVERT R., BENHAMOU J.P. : Une solution attendue depuis 50 ans, celle des problèmes des bilirubines directe et indirecte. Rev. Franc. d'Etudes Cliniques et Biol. 1958, 3, 6.

37bis FAUVERT R., BENHAMOU J.P., NICOLLOT S. : Les clearances hépato-biliaires. Congrès International de la Fonction Biliaire. 1958, 79-115.

38 - FAUVERT R., BENHAMOU J.P. : Les ictères à bilirubine libre . La Revue du Praticien 1960, 10, 8, 831-849.

39 - FORRAI et SIVO R. : Biochem. Zeitcher. 1927, 189,162.

40 - FOULK W.T., SHOENFIELD L.J. : Advances in the Metabolism of bilirubin J.A.M.A. 1961, 178, 398.

41 - GILBERT et LEREBOULLET : La Cholémie simple familiale. Sem. Med. Paris 1901, 21, 241-49.

42 - GILBERT A., HERSHER M., POSTERNAK S. : Soc. Biol. 1903, 55, 530.

43 - GOLDFISHER S., ARIAS I.M., ESSNER E., NOVIKOFF A.B. : Cytochemical and election microscopic studies of rat liver with reduced capacity to transport conjugated. J. Exp. Med. 1962, 115, 467-474.

44 - GREGORY R.L. et ANDERSCH M.J. LAB and CLIN. MED. 1937, 22,IIII.

45 - GREGORY CH., WATSON : Studies of conjugated bilirubin. J. LAB. and CLIN. MED. 1962, 60, 1.

46 - GRODSKY G. et CARBONE J.V. : BIOL. CHEM. 1957, 226, 449.

47 - HIJMANS VAN DEN BERG, DER GALLEN FARBSTOFF IM BLUTE, 1918. J.A. BARTH Ed. LEIPZIC et VAN DOESBURG Ed. LEIDEN.

48 - HAMMARSTEN O. UPSALA LAKAREFOREN FORHANDL 1978, 14, 50.

49 - HOFFMANN HARRY N., WHITCOMB Ferd., BUTT HUGH R. and BOLLMANN JESSE L. Bile Pigments in Jaundice . J. CLIN. INVEST 1960, 132-141.

50 - HSIA YI YUNG D. et AL. : Inhibition of glucuronyl transferase by progestational agents from sérum of Pregant Women. NATURE 1960, 187, 693-694.

51 - ISRAELS L. G., SUDERAM H.J. et RITZMANN S.E. : Hyperbilirubinemia due to an alternate path of bilirubin production. AM. J. MED. 1959, 27, 693-702.

52 - JOUVENCEAUX A., MICHAUD D. : Problèmes posés par l'imcompatibilité foeto-maternelle. 1961, 86-92.

53 - JOUVENCEAUX A., BRIZARD C.P., Mme MICHAUD D. et REVOL L. Considérations sur la pathogénie et le traitement de la maladie hémolytique du N.N. dûe au facteur RH (à propos de 30 cas). Pédiatrie 1958, 13.

54 - KLATSKIN G. et BUNGARDS L:, CLIN.J. Invest. 1956, 35, 537.

55 - KUHN H.A. Discussion de la communication d'I.M. ARIAS : Non acholuric jandice (GILBERT'S DISEASE). PROC. INTERN. CONG. GASTROENTEROLOGY LEYDEN. EXCERPTA MEDICA 1960, 105-110.

56 - LATHE G.H. et WALKER MARJORIE. : The Synthesis of Bilirubin Glycuronide in Animal and Human. Liver Biochem. J. 1958, 70, 705-711. Bibliog.

56bis LE BON J., CLAUDE R. : Les ictères des cirrotiques. Sem. Hop. Paris, 4 juin 1958, 1617-1625.

57 - LESTER Roger and RUDI SCHMID. : The Métabolism of intestinal absorption of bilirubin. J. Clin. Invest. 1962, 41, 1379.

58 - LONDON I.M. et WEST R. : The formation of bile pigment in pernicious anemia. J. Biol. Chem. 1950, 184, 359-364.

59 - MATHIAS P. Contribution à l'étude des hyperbilirubinémies provoquées. Thèse Paris, 1958.

60 - MONASTERIO G., MAGGIORE Q. : Il Progresso Medico Roma 1962, 32.

61 - MONNET L. Contribution à l'étude du dosage des pigments biliaires du sérum sanguin (bilirubine totale et fraction non conjuguée). Thèse 1961.

62 - MONNET L. et DORCHE J. : Données actuelles sur la biochimie et le dosage des pigments biliaires du sérum sanguin. Revue Lyonnaise de Med. 1962, 11, 16. 1037-1046.

63 - MORETTI G.F., STAEFFER J., DEMANGE G., BALLAN P. : Bilirubinémie directe et indirecte. Sem. Hop. Paris 1960,34,-35, 2033-2035.

64 - NEIMANN N., PIERSON M. : L'ictère nucléaire. Rev. Intern. Hépatol. 1960, 10, 259-316.

65 - NEWER CONCEPTS OF JAUNDICE J.A.M.A. 1959, 24.

66 - NOSSLIN B. The direct diazoreaction of bile pigments in sérum. Scand. J. Am. Lab. Invest 1960, 12, Suppl. 49.

67 - O.DONNEL James, Steven MISTILIS, Léon SCHIFF, Marian PILLER. : A comparison of bilirubin clearance by the intact rat liver and by isolated perfused rat liver. J.A.M.A. 1962, 180, 762.

68 - OSTROW DONA LD, JAMES H., JANDL and RUDI SCHMID : J. Clin. Invest. 1962, 41, 1628-1637.

69 - PEDERSEN K.O., WALDENSTROM J., ZEISTSCHR. : Physiol. Chem. 1936, 245-152.

70 - PERLES R. Annales de Biologie Clinique 1958, 16, 141-154.

71 - POLONOWSKI Biologie Médicale 6ème Ed. 1961.

72 - ROYER M. La Bilirubine à réaction directe des sérums humains normaux. Congrès International de G.E. LEYDEN 1960.

73 - SALAZAR DE SOUZA C.M., CORDEIRO M.L. et H.R.C. MENANO : Revue Intern. Hépatologie 1960, 10, 187.

74 - SCHACHTER D. Estimation of Bilirubin mono and diglucuronide in the plasma and urine of patients with non hemolytic jaundice. J. Lab. Clin. Med. 1959, 53, 4, 557-562.

75 - SCHALM L. Research on the physiology of Bilirubin. Rev. Intern. Hépatol. 1962, 12, 559-565.

76 - SCHOENKER Steven, NANCY DAWBER, RUDI SCHMID. : Disposition de bilirubin in the foetus. J. Labo. and Clin. Med. 1962, 60.

77 - SCHIFF.L, BILLING B.H. et OIKAWA Y. : Familial non hemolytic jaundice with conjugated bilirubin in the serum. NEW ENGLAND J. Med. 1959, 260, 315-319.

78 - SCHMID Rudi. Jaundice and Bilirubin Métabolism. Ama Archives of International Medecine 1958, 101, 669-674.

79 - SCHOENFIELD L.J., BOLLMANN J.L. and HOFFMANN N.H. : Sulfate and glucuronide conjugation of bilirubin in experimental liver injury. J. CLIN INVESTG. 1962, 41, 133.

80 - STOREY I.D.E., DUTTON G.H. : Biochem. J. 1955, 59, 279.

81 - TALAFANT. Properties and composition of the bile pigments giving a direct diazoreaction. Nature 1956, 178, 312.

82 - TALAFANT et TOVAREK : Factors affecting the rate of bilirubin conjugation in vitro. Nature 1959, 183, 111-112.

83 - TISDALE W.A., KLATSKIN G., KINSELLA E.D. : The significance of the direct reacting fraction of serum bilirubin in hemolytic jaundice. AM J. Med. 1959, 26, 214-227.

84 - TRAISSAC F. J. Physiopathologie du syndrome ictérique. Presse Médicale 1960, 50.

85 - TUTTLE. Electrophoretic and spectrophotometric studies of serum pigments in erytroblastosis fetalis. Am. J. Dis. Child. 1955, 89, 544.

86 - VERSCHURE J.C.M. : L'importance de la bilirubine dans la clinique médicale. Annales de Biologie Clinique 1958, 16, 119-126.

87 - WILLIAMS J., WATERS R. and WILLET R. BOWEN. : Inhibition of bilirubin conjugation in vitro. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1958, 99, 175-177.

88 - WITH T.K. Les bilirubines directes et indirectes. Données récentes sur leur biochimie et leur signification clinique. Annales de Biologie Clinique 1958, 16, 13-20.

89 - YAMAKOA K. et KOSAKA K. : PROC. Japan Acad. 1951, 27, 715-720.